

FABIANE CUNHA

**BIOECOLOGIA E INFESTAÇÃO DA LAGARTA-DO-GIRASSOL, *Chlosyne lacinia*  
*saundersii* (Doubleday & Hewitson ) (LEPIDOPTERA: NYMPHALIDAE), EM PLANTAS  
HOSPEDEIRAS E GENÓTIPOS DE GIRASSOL**

Tese apresentada como requisito parcial para obtenção  
do grau de “Doutor em Ciências” no Programa de Pós-  
graduação em Ciências Biológicas, Área de  
Concentração Entomologia, da Universidade Federal do  
Paraná.

Orientador: Dr. Flávio Moscardi

Curitiba – PR

2010

**“Depois de escalar um grande morro, descobrimos que há muitos outros morros a escalar”**

**Nelson Mandela**

À minha Mãe Darci de Lourdes Thomazini

DEDICO.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pelos desafios diários que justificam plenamente a vida.

Ao Dr. Flávio Moscardi, meu orientador e amigo, a quem tenho grande admiração pelo exemplo de dedicação à Entomologia.

Ao programa de Pós-graduação em Entomologia da Universidade Federal do Paraná, a todo seu corpo docente, pelo conhecimento transmitido.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Soja), especialmente à equipe de Entomologia, pela amizade e colaboração.

Aos pesquisadores da Embrapa que participaram de forma direta para a realização deste trabalho: Dr Daniel Sosa-Gómez, Dra Clara Beatriz Hoffmann-Campo, Dra Ivani Lopes Negrão, Dra Maria Cristina de Oliveira Neves e Dr Eliseu Binneck.

Aos funcionários Sonia, Melquiades, Vilma, Jorge e Elisa do Laboratório de Tecnologia de Sementes que dividem o bloco onde se encontra parte do Laboratório de Entomologia, pelos intervalos de plena alegria.

À equipe de campo da Entomologia e meus amigos Oriverto, Pavão, Wilson, Elias, Nivaldo, Valter e Adriano, pelo aprendizado e dedicação nas coletas e avaliações.

À minha Mãe Darci, meus irmãos André Luiz e Ayslan e meus sobrinhos Giovanni e Valentina, por representarem em minha vida a verdadeira essência do amor.

Aos meu cunhado Osmair e cunhada Kareenn, pela nossa amizade e por me proporcionarem momentos mágicos nas nossas reuniões em família.

À Tania Regina da Cunha, um agradecimento especial pela amizade, paciência, amor incondicional e principalmente, por acreditar que este trabalho era possível.

À minha grande amiga Talita Moretto Alexandre, com enorme carinho por tudo que vivemos e passamos juntas e até pelos apelidos que recebemos, como Tico e Teco, Batman e Robin, Pink e Cérebro, etc.

Aos amigos: Daniela, Dania, Beatriz, Cíntia, Priscila, Luzia, Rubens e Ivanilde pelo agradável convívio nos últimos anos.

Às amigas de sempre: Sandra Pierozan, Heloisa Inês de Jesus e Valquiria dos Santos Ochman que, apesar da distância, sempre se fizeram presentes em minha vida.

A toda família Cervi, que por muitos anos fez parte da minha vida e sempre me deu o apoio necessário para levar adianta os meus estudos.

Aos amigos de laboratório: Fábio Siqueira, Rogério, Flávia, Silvia, Renata, Jaqueline, Francine, Luciano e Samuel, pelos bons momentos que passamos juntos.

Aos Técnicos de Laboratório e Laboratoristas do Setor de Entomologia da Embrapa Soja, dos quais me orgulho em chamar de amigos: Fabio E. Paro, Ivanilda L. Soldório, Rose, Jairo José da Silva e Jovenil J. da Silva, pelo apoio e grande exemplo de generosidade.

Aos meus pequenos Yuna da Cunha e Yan da Cunha, pelos momentos de descontração em meio às preocupações com a elaboração da tese.

## ÍNDICE

AGRADECIMENTOS .....	iii
RESUMO.....	viii
ABSTRACT .....	xi
LISTA DE TABELAS .....	xiv
LISTA DE FIGURAS .....	xvi

### CAPÍTULO 1

#### **Introdução geral**

1.1. Introdução .....	1
1.2. Objetivos .....	4
1.3. Literatura Citada .....	6

### CAPÍTULO 2

#### **Diversidade genética de populações da lagarta-do-Girassol (*Chlosyne lacinia saundersii* Doubleday & Hewitson) (Lepidoptera: Nymphalidae)**

2.1. Introdução .....	10
2.2. Material e métodos .....	11
2.3. Resultados e discussão .....	15
2.4. Literatura citada .....	21

## CAPÍTULO 3

**Preferência para oviposição e ocorrência da lagarta-do-girassol (*Chlosyne lacinia saundersii*)****Doubleday & Hewitson, (1849) (Lepidoptera: Nymphalidae) em diferentes plantas hospedeiras**

3.1. Introdução .....	27
3.2. Material e métodos .....	28
3.3. Resultados e discussão .....	31
3.4. Literatura citada .....	34

## CAPÍTULO 4

**Parâmetros biológicos e fisiológicos de *Chlosyne lacinia saundersii* Doubleday & Hewitson****(Lepidoptera: Nymphalidae) em diversas plantas hospedeiras.**

4.1. Introdução .....	38
4.2. Material e métodos .....	39
4.3. Resultados e discussão .....	44
4.4. Literatura citada .....	54

## CAPÍTULO 5

**Infestação da lagarta-do-girassol *Chlosyne lacinia saundersii* Doubleday & Hewitson,****(Lepidoptera: Nymphalidae) em genótipos de girassol na região de Londrina, PR.**

5.1. Introdução .....	58
5.2. Material e métodos .....	59
5.3. Resultados e discussão .....	62

5.4. Literatura citada .....	66
------------------------------	----

<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>69</b>
-----------------------------------	-----------

## RESUMO

O Girassol (*Helianthus annuus* L.) (Asteracea) constitui a segunda cultura produtora de óleo comestível do mundo. No Brasil, a maior parte do território está apta ao seu cultivo, apresenta ainda a vantagem de poder ser plantada em sucessão à cultura principal, na seca, devido tanto ao seu ciclo relativamente curto como à sua pouca sensibilidade ao frio e a seca, chegando, dessa forma, à indústria de extração numa época em que esta se encontra carente de matéria-prima para o processamento. Paralelamente ao crescimento da cultura do girassol, diversos problemas ocorrem na produtividade, destacando-se os insetos, como os coleópteros, pentatomídeos e lepidópteros destacando a lagarta do girassol *Chlosyne lacinia saundersii* Doubleday & Hewitson (1849) (Lepidoptera: Nymphalidae). Visando aprimorar estudos relacionados a esta lagarta, foram realizado estudos relativos à bioecologia e estrutura genética de suas populações, em oito estados brasileiros (RS, PR, MS, SP, DF, MG, BA e RO) mediante a técnica de RAPD. Insetos da região Sul e Centro-Oeste (Santa Maria, Londrina e Dourados) foram geneticamente próximas (Dice = 0,76), quanto comparadas com as populações de Vilhena, Uberaba, Barreiras e Ribeirão Preto. A maior dissimilaridade genética (Dice = 0,71-0,74) foi observado entre as populações de Vilhena e Uberaba, e a maior heterogeneidade ocorreu na população de Vilhena. Os índices de fluxo gênico ( $Nm$ ) variaram de 0,9 entre as populações de Londrina e Ribeirão Preto, até 6,7 entre as populações de Vilhena e Uberaba e a estimativa entre todas as populações foi de 1,1.

Além da extensa área de ocorrência desse inseto, o mesmo também é encontrado em diversas plantas hospedeiras. No intuito de aprofundar maiores conhecimentos nessa área, também foi realizado testes de preferência desse lepidóptero em diferentes plantas hospederias: *Parthenium hysterophorus* (Família), *Acanthospermum hispidum* (Família), *Bidens pilosa* (Família), *Galinsoga*



*ciliata* (Família), *Tridax procuben* (Família), *Glycine max* (Família), *Senecio brasiliensis*, *Emilia sonchifolia* (Família) e *Sonchus oleraceus* (Família). *Parthenium hysterophorus* destacou-se tanto na ausência do girassol (1º época), como na presença do girassol (2º época) como a planta hospedeira preferencial dos adultos (1,81 e 2,05 indivíduos/planta respectivamente), oviposição (1,40 e 0,70 massas de ovos/planta) e número de lagartas/planta (118,60 e 68,80). Dessa maneira, as plantas hospedeiras pré selecionadas no teste de preferência foram submetidas a um estudo de aspecto biológico e fisiológico para avaliar o efeito dessas plantas no crescimento, consumo alimentar, eficiência na assimilação e conversão dos alimentos ingeridos e digeridos em biomassa da lagarta do girassol. Constatou-se que a maior mortalidade ocorreu para *T. procubens*, seguida por aquelas que se alimentaram de folhas de *G. ciliata*, no 3º e 7º instares respectivamente. Houve efeito significativo dos tratamentos, nos pesos iniciais das lagartas de 3º ínstar, peso de pupa, peso de dieta consumida, peso de fezes e tempo de alimentação. Em relação aos genótipos testados, observou-se que não houve diferença significativa de infestação da lagarta para a primeira época de plantio (setembro), nos três anos de avaliação (2006, 2007 e 2008), em função da baixa ocorrência do inseto. Já para a segunda época de plantio (dezembro), no primeiro ano de avaliação, os tratamentos distribuíram-se no intervalo de 37,7% (AGUARÁ3) a 75,2% (CATISSOL01) de plantas atacadas. No segundo ano, essa infestação foi menor, ficando entre 25% (AGUARÁ3) a 63,5% (CATISSOL01), e no último ano foi de 37,7% (AGUARÁ3) a 64,7% (MG50).

**PALAVRAS-CHAVE:** Lepidoptera, preferência por oviposição, plantas hospedeiras, marcador molecular.

## ABSTRACT

Sunflower (*Helianthus annuus* L.) is the second worldwide crop related to the production of table oil, which is very healthy due to the high degree of insaturation. This crop is very promising in Brazil, where most of its territory is suitable for sunflower cultivation. Furthermore, it has the advantage to be planted as a second crop after the main summer crop, due to its relatively short cycle and low susceptibility to drought and cold weather, being thus available to the industry in a period when there is a lack of product for processing. With the increase in the sunflower cultivated area in Brazil, various problems became relevant in limiting crop yield, such as insect pests, including various coleopterans, stink bugs and mainly the sunflower caterpillar, *Chlosyne lacinia saundersii* Doubleday & Hewitson (1849) (Lepidoptera: Nymphalidae). As the literature is scanty with this species, with the majority of trials related to use of chemical insecticides or economical impact, we aimed to conduct studies related to the bioecology and genetic structure of different geographical populations of the insect. Populations collected in eight Brazilian states were evaluated using the RAPD technique. Those of the South and South Central regions (Londrina, Dourados and Santa Maria) were genetically close (Dice = 0.76) when compared to the populations of Vilhena, Uberaba, Barreiras and Ribeirão Preto. The highest genetic dissimilarity (Dice = 0.71-0.74) was observed between populations from Vilhena and Uberaba. The most heterogeneous population was from Vilhena, as samples from this population were found interspersed among populations from other localities. The gene flow index ( $Nm$ ) varied from 0.9 between the Londrina and Ribeirão Preto populations, up to 6.7 for those of Vilhena and Uberaba, with an estimate of 1.1 among all tested populations.

The insect is found over an extensive geographical area in the country and also on several host plants. In order to improve knowledge on these host plants, preference trials were conducted using the following plants: *Parthenium hysterophorus*, *Acanthospermum hispidum*, *Bidens pilosa*, *Galinsoga ciliata*, *Tridax procubens*, *Glycine max*, *Senecio brasiliensis*, *Emilia sonchifolia* e *Sonchus oleraceus*. The *Parthenium hysterophorus* was the most preferred plant, either in the absence (first trial) or presence (second trial) of sunflower, for the adult insects (1.81 and 2.05 adults/plant respectively), oviposition (1.40 and 0.70 egg masses/plant, respectively) and number of larvae (118.60 and 68.80 larvae/plant respectively). Even some of the less preferred plants could be considered as alternative hosts to the insect, since once in a while they were chosen for oviposition and as food. Some of the host plants selected from these preference trials were used for studies on the insect's biology and physiology, through evaluation on the effect of these plants on growth, food consumption, efficiency of food assimilation and conversion of ingested as well as digested food in sunflower caterpillar biomass. The higher larval mortality occurred for insects fed on *T. procubens*, followed by those fed on *G. ciliata* leaves, respectively on the third and seventh instar. There was a significant effect of the treatments for all the studied variables, including larval weight at the end of the third instar, pupal weight, weight of consumed food, weight of faeces, and feeding duration. Studies with different sunflower genotypes, during three consecutive seasons, resulted in no significant difference in larval infestation among the genotypes, for the first sowing date (September), for the three seasons (2006, 2007 and 2008), due to the very low insect incidence. On the other hand, for the second sowing date (December), in the first season (2006) the treatments were distributed in the interval of 37.75 % (AGUARÁ3) to 75.25 % (CATISSOL01) of attacked plants. In the second season (2007), the larval infestation was lower, varying from 25.00 % (AGUARÁ3) to 63.50 % (CATISSOL01), and in the third season (2008) varied from 37.75 %

(AGUARÁ3) to 64.75 % (MG50). During the three seasons, the correlation between damage and larval attack was over 90 %.

KEY WORDS: Lepidoptera, preference oviposicion, host plants, genetic molecular.

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO 2

Tabela 2.1. Locais de coleta da <i>Chlosyne lacinia saundersii</i> para análise da variabilidade genética intra e interespecífica, usando marcadores RAPD.....	12
Tabela 2.2. Número de locos de RAPD de <i>Chlosyne lacinia saundersii</i> .....	15
Tabela 2.3. Número de bandas polimórficas produzidas pelos iniciadores utilizados para a caracterização de populações de <i>Chlosyne lacinia saundersii</i> .....	16
Tabela 2.4. Análise de variância molecular (AMOVA) de oito populações geográficas de <i>C. lacinia saundersii</i> .....	17
Tabela 2.5. Comparações pareadas entre populações de <i>C. lacinia</i> através do coeficiente de Nei, para estimativa de fluxo gênico ( $N_m$ ) de <i>Chlosyne lacinia saundersii</i> .....	19

### CAPÍTULO 3

Tabela 3.1. Média de adultos de <i>C. lacinia saundersii</i> em diferentes plantas hospedeiras na 1ª época (sem a presença do girassol) e na 2ª época (com a presença do girassol e as plantas hospedeiras pré – selecionadas pelo inseto).....	31
Tabela 3.2. Média de lagartas de <i>Chlosyne lacinia saundersii</i> e massas de ovos em diferentes plantas hospedeiras, em duas épocas, com ou sem a presença do girassol.....	33

### CAPÍTULO 4

Tabela 4.1. Porcentagem de mortalidade de <i>Chlosyne lacinia saundersii</i> acondicionadas em placas de Petri e mantidas em estufas incubadoras tipo B.O.D a $27 \pm 1^\circ\text{C}$ ; UR: $90 \pm 10\%$ , fotofase de	
--	--

12h alimentadas com diferentes plantas hospedeiras, para a realização do bioensaio dos parâmetros biológicos e fisiológicos da *C. lacinia saundersii*.....44

Tabela 4.2. Peso inicial de lagartas 3º instar (mg), peso seco de pupa (mg), dieta consumida (mg), peso seco de fezes (mg) e tempo de alimentação (dias) (Média ± EP) de *Chlosyne lacinia saundersii* alimentadas com folhas de diferentes plantas hospedeiras acondicionadas em placas de Petri e mantidas em estufas incubadoras tipo B.O.D a  $27 \pm 1^\circ\text{C}$ ; UR:  $90 \pm 10\%$ , fotofase de 12h para a realização do bioensaio dos parâmetros biológicos e fisiológicos.....45

Tabela 4.3. Análise de covariância (ANCOVA) para verificar o efeito dos diferentes tratamentos no ajuste de peso de pupa pela covariável peso inicial (a, b), peso de pupa pelas covariáveis tempo de alimentação e consumo (c,d,e,f), consumo pela covariável tempo de alimentação (c,d), peso de fezes pela covariável consumo (e), peso de pupa pela covariável alimento digerido (g,h) em *Chlosyne lacinia saundersii*.....47

## CAPÍTULO 5

Tabela 5.1. Sementes de girassol utilizadas para a realização do experimento nas safras de 2006 a 2008, em Londrina PR, para avaliar a infestação de *Chlosyne lacinia saundersii*.....60

Tabela 5.2. Média de porcentagem de infestação de *Chlosyne lacinia saundersii* em 12 genótipos de girassol, nas safras 2006, 2007 e 2008 em Londrina PR.....63

Tabela 5.3. Análise de medidas repetidas no tempo para efeitos de tempo e interação tempo genótipo considerando a infestação de girassol por *Chlosyne lacinia saundersii*..... 64

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO 2

- Figura 2.1. Variação intra específica OPA-05 produto da amplificação do DNA genômico de populações de *C. lacinia* de Santa Maria RS e Uberaba MG. Como marcador de peso molecular foi utilizado o DNA do fago Lambda digerido com as endonucleases *EcoRI*, *HindIII*, e *BamHI* ..... 15
- Figura 2.2. Dendrograma de 224 indivíduos de *C. lacinia* em plantas hospedeiras em oito estados do Brasil. O coeficiente de Dice foi calculado usando a frequência alélica de marcadores RAPD, e o dendrograma foi gerado pelo método da média aritmética não-ponderada (UPGMA). Os valores em % indicam o número de vezes que os insetos agruparam juntos em 1000 ciclos de análise de bootstrap através do programa computacional Applied Maths (1998).....18

### CAPÍTULO 3

- Figura 3.1. Estrutura (telado) construída para acondicionar as diferentes plantas hospedeiras e a lagarta-do-girassol (*Chlosyne lacinia saundersii*).....29

### CAPÍTULO 4

- Figura 4.1. Bandejas mantidas em estufas incubadoras tipo B.O.D a  $27 \pm 1^\circ\text{C}$ ; UR:  $90 \pm 10\%$ , fotofase de 12h com placas de Petri contendo folhas de losna-branca para a realização do bioensaio dos parâmetros biológicos e fisiológicos da *C. lacinia saundersii*. ..... 41
- Figura 4.2. Relação entre peso de pupa (mg) e peso inicial de lagartas (mg) de *Chlosyne lacinia saundersii* alimentada com folhas de diferentes plantas hospedeiras..... 48

Figura 4.3. a e b. Relação entre a quantidade de dieta consumida (mg) com o peso de pupa (mg) e o tempo de alimentação (dias) de <i>Chlosyne lacinia saundersii</i> alimentada com folhas de diferentes plantas hospedeiras.....	49
Figura 4.4. a e b. Relação entre a quantidade de dieta consumida (mg) com o peso de pupa (mg) e o peso de fezes (mg) de <i>Chlosyne lacinia saundersii</i> alimentada com folhas de diferentes plantas hospedeiras.....	50
Figura 4.5. Conversão do alimento consumido pela <i>Chlosyne lacinia saundersi</i> em diferentes da plantas hospedeiras.....	50
Figura 4.6. Relação entre peso de pupa (mg) e quantidade de alimento digerido (mg) de <i>Chlosyne lacinia saundersii</i> alimentada com folhas de diferentes plantas hospedeiras.....	52

## CAPÍTULO 5

Figura 5.1. Parcelas com 12 genótipos de girassol para avaliação da ocorrência de <i>C. lacinia saundersii</i> em Londrina PR, safras 2006 a 2008.....	61
Figura 5.2. Porcentagem de desfolha causados pela <i>Chlosyne. lacinia saundersii</i> em dois metros lineares em plantas de girassol nas safras de 2006 a 2008.....	65



## **CAPÍTULO 1**

### **Introdução geral**

#### **1.1. Introdução**

O cultivo do girassol, *Helianthus annuus* L.(Asteracea), tem sido explorado em várias partes do mundo, podendo ser plantado em períodos de primavera-verão e/ou outono-inverno, dependendo das condições locais. Por apresentar baixa sensibilidade fotoperiódica, desenvolve-se em várias latitudes e ambientes, tanto no hemisfério Norte como no Sul, fazendo com que as práticas culturais mais adequadas devam ser adaptadas para cada situação climática específica (Silveira *et al.* 2005).

No Brasil, o girassol pode ser cultivado desde o Rio Grande do Sul até o estado de Roraima no hemisfério Norte. Apresenta ainda a vantagem de poder ser plantado na segunda safra, devido tanto ao seu ciclo relativamente curto e menor sensibilidade ao frio e à seca, chegando desta forma à indústria de extração numa época em que esta pode se encontrar carente de matéria-prima para processamento.

Além das características favoráveis para o cultivo do girassol no Brasil, essa cultura vem despertando interesse nacional devido à excelente qualidade de seu óleo, tanto para a saúde humana em função do alto grau de insaturação, como ração animal e também por representar uma boa opção energética como o biocombustível.

No aspecto fitossanitário, diversos insetos ocorrem na cultura do girassol no Brasil, resultando em redução na produtividade da cultura se não forem controlados adequadamente. Os danos podem envolver insetos que atacam as raízes, que cortam plântulas, reduzindo o estande da cultura, que causam desfolha e os que atacam a haste, o capítulo e os aquênios.

Embora o girassol seja cultivado no Brasil desde a década de 1920 (Garcia, 1988), foi somente a partir da década de 1980 que passou a ser produzido em maior escala. Com sua expansão, insetos que tinham pouca expressão em termos de ocorrência e danos à cultura (ex. percevejos e lagartas) (Ungaro 1981, Moscardi & Corso, 1988) passaram a ocorrer em maior intensidade populacional, tornando-se economicamente importantes (Malaguido & Panizzi, 1988a, Camargo & Amábile, 2001).

Dentre essas pragas a lagarta-do-girassol, *Chlosyne lacinia saundersii* (Doubleday & Hewitson 1849) (Lepidoptera: Nymphalidae) é uma espécie que produz danos consideráveis, ocorrendo nos estados de São Paulo, Rio de Janeiro e Paraná (Lourenção & Ungaro, 1983) e Rio Grande do Sul, Mato Grosso do Sul, Distrito Federal, Minas Gerais, Bahia e Rondonia (Cunha *et al.* 2009).

A literatura existente sobre *C. lacinia saundersii* é escassa tanto para o enfoque econômico quanto aos demais estudos envolvendo bioecologia. Os trabalhos sobre aspectos genéticos restringem-se à genética da variação das cores nas larvas de *C. lacinia saundersii* (Gorodenski 1969 Neck *et al.* 1971, De Vries 1987, Zucchi *et al.* 1993, Gallo *et al.* 2002 & Moscardi 2005.. Como se trata de praga agrícola e com o aumento da expansão do girassol no Brasil, que nos últimos seis anos passou de 77 mil hectares para 150 mil hectares (CONAB 2009), criou-se um hábitat favorável, com recursos de alimento, o que pode possibilitar aumento do fluxo gênico, diminuindo a diferenciação genética. Dessa maneira, estudos relacionados à genética de populações seriam adequados, os quais também se mostram como ferramenta necessária para o planejamento de estratégias de manejo.

Com relação ao controle de *C. lacinia saundersii*, a maioria das aplicações de inseticidas na cultura do girassol são feitas visando ao controle dessa lagarta, como é o caso de obtenção de cultivares resistentes que proporcionariam redução no uso de defensivos agrícolas.

Paro Jr & Nakano (1976), com o objetivo de demonstrar a nocividade de *C. lacinia saundersii* à cultura de girassol, desenvolveram um ensaio com simulação de danos foliares em diferentes estádios de desenvolvimento dessa cultura. Assim, com base em desfolhas artificiais constataram que os danos provocados antes dos 40 dias de idade da planta levam à redução total da produção, enquanto que, no período de 48 a 68 dias de idade, o desfolhamento causou uma redução na produção de 72 a 85%.

Em Londrina, Villas Boas & Moscardi (1985), efetuando uma desfolha artificial em plantas de girassol, concluíram que nos estágios de 50% e 75% da floração, as plantas se mostram mais suscetíveis. Lourenção & Ungaro (1983), que trabalhando em Campinas, SP, com 18 cultivares de girassol, verificaram, em condições de campo, que as cultivares Cargil-33 e Estanazuella-75, com valores de 20,% e 19,% de desfolha, em média, respectivamente, comportaram-se como as mais resistentes ao ataque de *C. lacinia saundersii*, enquanto Conti GH-8121 foi a que apresentou maior porcentagem de desfolha pelas lagartas desta espécie, com índice médio de 57,8%.

Boiça Jr & Vendramim (1993) pesquisaram a infestação da *C. lacinia saundersii* em 16 cultivares, em condições semelhantes que os autores acima citados e constaram que as cultivares Cargil 33, Contissol, Issanka-F, PIGB, Uruguai e Contissol-621 apresentaram menor infestação e Contissol-711, Contissol-112 e Rumano-P4 são as mais infestadas.

A lagarta-do-girassol possui várias plantas hospedeiras alternativas, principalmente da família Asteraceae (Campos-Farinha *et al.* 1997, Moscardi *et al.* 2005). Antes da presença do girassol em campo, essa lagarta é frequentemente encontrada alimentando-se, principalmente das Asteraceae: carrapicho-de-carneiro, *Acanthospermum hispidum*, losna-branca *Parthenium hysterophorus* e picão-preto *Bidens pillosa* (Moscardi *et al.* 2005). Entretanto, em áreas com a presença do girassol, que, aparentemente, é mais preferido por essa lagarta, verificou-se que sua incidência sobre plantas hospedeiras alternativas foi bastante reduzida (Moscardi 1983).

Conhecimento dos mecanismos envolvidos na estrutura genética das populações, resistência, e informações de interação desse inseto com suas plantas hospedeiras, pode contribuir para o desenvolvimento de táticas de controle mais eficiente para essa praga considerando as seguintes hipóteses:

- 1) Existe diferença genética dentro e entre as populações de *C. lacinia saundersii* coletadas em regiões do Brasil;
- 2) As plantas hospedeiras influenciam o comportamento do inseto, a alimentação de adultos e a oviposição;
- 3) Na presença do girassol há diferença no comportamento do inseto em relação às plantas hospedeiras alternativas;
- 4) As plantas hospedeiras influenciam no desenvolvimento, nutrição e fisiologia das lagartas;
- 5) Existe preferência do inseto por diferentes genótipos de girassol
- 6) A época de plantio do girassol influencia na ocorrência da *C. lacinia saundersii*

## **1.2. Objetivo Geral**

Pesquisar a bioecologia da lagarta-do-girassol, bem como sua relação com plantas hospedeiras.

O estudo teve os seguintes objetivos específicos:

- Investigar populações de *C. lacinia saundersii* através da técnica de RAPD de diferentes regiões do Brasil;
- Selecionar e comparar a preferência para oviposição e alimentação em diferentes plantas hospedeiras, com e sem a presença do girassol;
- Avaliar parâmetros biológicos e fisiológicos da lagarta em relação a diferentes plantas hospedeiras;
- Verificar a ocorrência do inseto em safras de girassol com aleternância de épocas;
- Comparar a infestação de lagartas em diferentes genótipos em condições de campo.

### 1.3. Literatura Citada

- Boiça Júnior, A.L. & J.D. Vendramin. 1993.** Infestação de girassol pela lagarta *Chlosyne lacinia saundersii* em duas épocas de cultivo. Scentia Agrícola 50: 244-253.
- Camargo, A. J. A & R.F. Amabile. 2001.** Identificação das principais pragas do girassol na região Centro-Oeste. Comunicado técnico 50. Embrapa Cerrados, Brasília, Brasil, 4p.
- Campos-Farinha A.E.C, N.P.O. Pinto & J.S. Govone. 1997.** Estudo do comportamento e desenvolvimento de lagartas de *Chlosyne lacinia saundersii*, Doubleday & Hewitson (1849) (Lepidoptera: Nymphalidae), no ataque a uma planta de girassol (*Helianthus annus* L.). Arq. Inst. Biol. 64:143-147.
- Cunha, F., D.R. Sôsa-Gomez, T.M. Alexandre & F. Moscardi.. 2009.** Diversidade genética de populações geográficas da lagarta-do-girassol (*Chlosyne lacinia saundersii* Doubleday & Hewitson) (Lepidoptera: Nymphalidae) determinada mediante marcadores moleculares de RAPD. An Acad Brás Ciênc
- De Vries P.J. 1987.** The butterflies of Costa Rica and their natural history. Papilionidae, Pieridae, Nymphalidae. Princeton University Press, 327p.
- Forti L.C. 1990.** Ecologia do manejo integrado de pragas. In: Crocomo W.B. Manejo Integrado de Pragas. Botucatu. CETESB 350p.
- Lara F.M. 1991.** Princípios de resistência de plantas a insetos. São Paulo, Cone. 336p.

**Gallo D., O. Nakano, S.S. Neto, R.P.L. Carvalho, G.C. Batista, E. Berti Filho, J.R.P. Parra, R. A. Zucchi, S.B. Alves, J.D. Vendramim, L.C. Marchini, J.R.S. Lopes & C. Omoto. 2002.** Entomologia Agrícola. Piracicaba, FEALQ, 920p.

**Gorodenski, S.A. 1969.** The genetics of three polymorphic larval color forms of *Chlosyne lacinia* (Lepidoptera, Nymphalidae). Genet. Res. 14:332-336.

**Lazzaroto, J.J., A.R. Roessing & H.C. Mello. 2005.** O agronegócio do girassol no mundo e no Brasil, p.15-42. In: Villas Boas de Campos Leite R M, A.M. Brighenti, C. de Castro, Girassol no Brasil. Londrina Embrapa Soja. 641p.

**Lourenção, A.L. & M.R. Ungaro. 1983.** Preferência para alimentação de lagartas de *Chlosyne lacinia saundersii* Doubleday e Hewitson, 1849 em cultivares de girassol. Bragantia. 42:281-286.

**Malaguido, A.B. & A.R. Panizzi, 1998a.** Pentatomofauna associated with sunflower in northern Paraná state, Brazil. An. Soc. Entomol. Brasil 27: 473-475.

**Moscardi, F. 1983.** Plantas hospedeiras da lagarta do girassol, *Chlosyne lacinia saundersii*, no Estado do Paraná. In: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisa de Soja, Londrina, PR. Resultados de Pesquisa de Girassol 1982 Londrina, 25-26.

- Moscardi, F & I.C. Corso. 1988.** Pragas do girassol no Brasil. In: Modestina, C.J. Manejo del cultivo, control de plagas y enfermedades del girasol. Programa Cooperativo de Investigación Agrícola del Cone Sur, Montevideu. Diálogo XXII, p-35-38.
- Moscardi, F., D.R. Sosa-Gómez & I.C. Corso. 2005.** Invertebrados associados ao girassol e seu manejo, p. 471-500 In: Villas Boas de Campos Leite R M, A.M. Brighenti, Castro C de. Girassol no Brasil. Londrina Embrapa Soja. 641p.
- Neck, R.W., L. Bush & B.A. Drumond. 1971.** Epistasis, associated lethals and brood effect in larval colour polymorphism of the patch butterfly *Chlosyne lacinia* Geyer. Heredity 26: 73-84.
- Paro Jr & L.A. Nakano O. 1976.** Dano simulado para a lagarta do girassol *Chlosyne lacinia saundersii* Doubleday & Hewitson, 1819 (Lepidoptera: Nymphalidae). An. Soc. Entomol. Brasil. 5:216-234.
- Rogers, C.E & T.E Thompson. 1980.** *Helianthus* resistance to the sunflower beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). J. Kansas Entomol Soc. 53:727-730.
- Silveira, J.M., C. Castro de, M.C. Mello de & F.A.F. Portugal. 2005.** Semeadura e manejo da cultura de girassol, p 374-409. In: Villas Boas de Campos Leite R M, A.M. Brighenti, Castro C de. Girassol no Brasil. Londrina Embrapa Soja. 641p.
- Ungaro, M.R.G. 1981.** Recomendações técnicas para o cultivo do girassol. Correio Agrícola Bayer, 2: 314-319.



**Villas-Boas, G.L. & F. Moscardi. 1985.** Levantamentos de insetos pragas no girassol e seus inimigos naturais. In: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. Resultados de pesquisa de girassol. Londrina 9-12.

**Zucchi, R.A., S. Siveira Neto & O. Nakano. 1993.** Guia de identificação de pragas agrícolas. Piracicaba, FEALQ, 139p.

## CAPÍTULO 2

### **Diversidade genética de populações da lagarta-do-Girassol (*Chlosyne lacinia saundersii* Doubleday & Hewitson) (Lepidoptera: Nymphalidae)**

#### **2.1. Introdução**

A lagarta-do-girassol, *Chlosyne lacinia saundersii* Doubleday & Hewitson (1849) (Lepidoptera: Nymphalidae), de ocorrência Neotropical, é a principal lagarta desfolhadora do girassol *Helianthus annuus* (Asteraceae) (Ungaro 1981, Nakano *et al.* 1981, Gallo *et al.* 2002). Citada pela primeira vez no Brasil por Maranhão (1945), em Piracicaba, SP, foi posteriormente referida em outros Estados, como Paraná (Silva *et al.* 1968, Villas Boas *et al.* 1981, Moscardi 1983, Villas Boas & Moscardi 1985), Rio de Janeiro (Silva *et al.* 1968), Mato Grosso do Sul (Boiça Jr. *et al.* 1984) e São Paulo (Silva *et al.* 1968, Boiça Jr. *et al.* 1984). De acordo com a infestação, estas lagartas podem provocar desfolhas de até 100%, deixando apenas as nervuras das folhas nas plantas atacadas (Nakano *et al.* 1981).

Os trabalhos sobre aspectos genéticos restringem-se à genética da variação das cores nas larvas de *C. lacinia saundersii* (Gorodenski 1969, Neck *et al.* 1971, De Vries 1987, Zucchi *et al.* 1993). Como se trata de praga agrícola e com o aumento da expansão do girassol no Brasil, que nos últimos seis anos passou de 77 mil hectares para 150 mil hectares (CONAB 2009), criou-se um habitat favorável, com recursos de alimento, o que pode possibilitar o aumento do fluxo gênico, diminuindo a diferenciação genética. Dessa maneira, estudos relacionados à genética de populações seriam adequados, os quais também se mostram como ferramenta necessária para o planejamento de

estratégias de manejo, principalmente em espécies que sofreram alterações em seu hábitat (Lougheed *et al.* 2000).

Neste estudo optou-se, dentre as técnicas moleculares, pela utilização de marcadores de RAPD (random amplified polymorphic DNA), pois estas identificam o polimorfismo do DNA amplificado aleatoriamente, através da utilização de um único iniciador de sequência arbitrária, sem necessidade de um conhecimento prévio do genoma da espécie, além de ser uma técnica de custo reduzido (Williams *et al.* 1990). Apesar de ser uma técnica na qual são amplificadas sequências aleatórias, muitos trabalhos têm demonstrado sua eficiência na diferenciação de genótipos em populações de insetos (Carvalho & Vieira 2001, Oliveira *et al.* 2002, Lopes-da-Silva *et al.* 2004).

Considerando que *C. lacinia saundersii* é um inseto de ocorrência em áreas de condições climáticas e geográficas distintas, fez-se um estudo com o objetivo de analisar a variação genética intra e interpopulacional desse inseto, o que pode contribuir para o desenvolvimento de estratégias de manejo integrado dessa praga.

## **2.2. Material e Métodos**

### **2.2.1. Coleta dos insetos**

Foram realizadas coletas de lagartas de *C. lacinia saundersii* de 2º a 4º instar em oito estados do Brasil, de acordo com a significância de cada região para a cultura do girassol (Tabela 2.1). Os insetos foram coletados no período de dezembro de 2007 a junho de 2008, em plantas de girassol e em plantas hospedeiras espontâneas, e transportadas ao laboratório. As lagartas foram mantidas em câmara de germinação *tipo BOD* a  $26^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  e  $65\% \pm 5\%$  de UR; fotofase de 12h) para eliminar parasitóides e entomopatógenos. Posteriormente, os insetos foram acondicionadas dentro de tubos,

hermeticamente fechados e contendo sílica gel desidratada, e mantidas a  $-15^{\circ}\text{C}$  até o momento da extração do DNA. Utilizaram-se 30 indivíduos de cada população, sendo 10 indivíduos de coloração nigra, 10 bicolor e 10 rufo.

**Tabela 2.1.** Locais de coleta da *Chlosyne lacinia saundersii* para análise da variabilidade genética intra e interespecífica, usando marcadores RAPD.

Local	Hospedeira	Data	Coordenadas
Barreiras - BA	<i>Helianthus annuus</i>	11/06/2008	12° 07' 29 79" S 44° 59' 14 59" O
Brasília - DF	<i>Tithonia diversifolia</i>	10/03/2008	15° 43' 43 76" S 47° 53' 58 61" O
Dourados - MS	<i>Parthenium hysterophorus</i>	18/01/2008	22° 16' 59 06" S 54° 49' 18 06" O
Londrina - PR	<i>Helianthus annuus</i>	13/12/2007	23° 11' 29 74" S 51° 10' 59 93" O
Ribeirão Preto - SP	<i>Tithonia diversifolia</i>	30/04/2008	21° 10' 12 18" S 47° 50' 51 55" O
Santa Maria - RS	<i>Helianthus annuus</i>	31/01/2008	29° 43' 41 34" S 53° 44' 40 89" O
Uberaba - MG	<i>Helianthus annuus</i>	10/03/2008	19° 29' 54 64" S 48° 02' 19 10" O
Vilhena - RO	<i>Helianthus annuus</i>	05/05/2008	12° 07' 24 85" S 60° 17' 24 71" O

### 2.2.2. Extração do DNA

O DNA foi extraído seguindo o protocolo de Rogers & Bendich (1988), com algumas modificações, sendo a extração realizada da cabeça para evitar a contaminação com a possível presença de parasitóides na hemocele das larvas (Sosa-Gómez *et al.* 2002).

Cada amostra foi macerada em 480  $\mu\text{l}$  de tampão de extração, em uma concentração final de 200 mM Tris-HCl (pH 8.0), 70mM EDTA, 2M NaCl e 1% de  $\beta$ -Mercaptanol. Após a adição de 120  $\mu\text{l}$  de CTAB a 10%, a amostra foi mantida a  $65^{\circ}\text{C}$  por 5 min. Adicionou-se 6  $\mu\text{l}$  de Proteinase K (10mg/ml) e em seguida a amostra foi incubada novamente  $65^{\circ}\text{C}$  por mais 60 min. Posteriormente, as amostras foram mantidas em temperatura ambiente e centrifugadas a 16.000 rpm por 15 min. O sobrenadante (500  $\mu\text{l}$ ) foi transferido para outro tubo de microcentrífuga e acrescentou-se o mesmo volume de clorofórmio/álcool isoamílico (24:1).

Após a homogeneização as amostras foram novamente centrifugadas a 16.000 rpm por mais 15 min. Em seguida foi retirada a fase aquosa (400 µl) e transferida para outro tubo, onde os ácidos nucléicos foram precipitados com o mesmo volume de isopropanol frio mais 45% do volume de acetato de amônia (10M). Esses tubos foram misturados por suaves inversões e mantidos a -20°C por 2 h a -4°C durante uma noite. As amostras então foram centrifugadas a 14.000 rpm por 15 min, descartando-se o sobrenadante e lavando-se o “pellet” com 300µl de etanol a 70% frio. Os pellets foram secos, com os tubos invertidos, em temperatura ambiente, por 10 min sendo então ressuspensos com 100,8 µl de solução de RNase (40 µg/ml) mais TE e os tubos foram colocados em estufa, por 30 min a 2 horas para a degradação do RNA. Alíquotas de DNA foram mantidas a 15°C e descongeladas, quando necessário, para realizar a amplificação do DNA.

O DNA foi quantificado com o auxílio de um espectrofotômetro Nanodrop® ND-1000 V3.5 (Wilmington, DE, USA) e sua integridade avaliada por eletroforese em gel de agarose 0,8%, corado com 10 mg/ml de brometo de etídio. A eletroforese foi realizada com tampão 10mM de NaOH, pH ajustado para 8,5 com ácido bórico (Brody Kern & 2004). O DNA foi visualizado e a imagem digitalizada com o sistema de captura de imagem usando um transiluminador L-PIX – ST e L-PIX IMAGE 7.1M Pixel, programa de captura de imagem L-PIX IMAGE 1.0.1 (Loccus Biotecnologia, São Paulo - SP).

### **2.2.3. Reações de RAPD**

As reações de amplificação foram conduzidas em um volume de 25 µl contendo, aproximadamente, 9 ng de DNA, água Milli Q estéril, tampão 10x, 0,4 µM de primer, 2,4 mM de MgCl<sub>2</sub>, 0,1mM de dNTP e Taq enzima polimerase (Gibco BRE) (1U). O controle independente das reações foi conduzido sem o DNA molde quando realizada a amplificação com cada iniciador. Os iniciadores que não produziram amplificações nítidas não foram considerados na análise. A PCR foi

realizada utilizando um termociclador PTC 200 DNA Engine™ (MJ Research, Scientific Support, Hayward, CA) versão 3.8 com o seguinte programa: 45 ciclos a 94°C por 15 seg, 39°C por 30 seg e 72°C por 1 min, e uma extensão final de 72°C por 7 min. Com um volume de 25 µl, o produto de RAPD foi submetido à eletroforese em agarose a 1,3% e tampão SB 1x em 120 volts. O DNA do fago Lambda, digerido com as endonucleases *EcoRI*, *HindIII*, e *BamHI*, foi utilizado como marcador de peso molecular. Os géis foram corados com 4,5 µl de brometo de etídio a 10 mg/ml e fotografados com o sistema descrito anteriormente.

#### 2.2.4. Análise dos dados

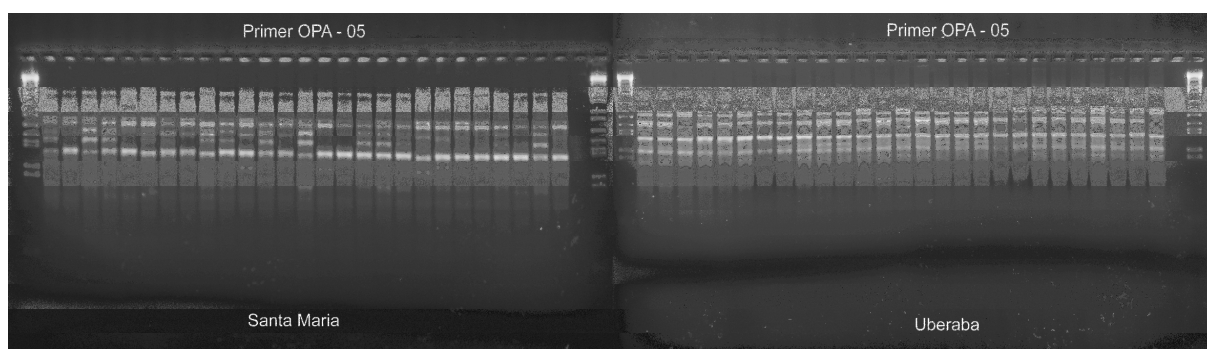
Os géis, depois de fotografados, foram analisados visualmente registrando-se a presença (1) e ausência (0) de bandas amplificadas com os distintos iniciadores, portanto assume-se que ocorrem dois alelos por loco. Somente bandas conspícuas e consistentes, assim como sua ausência foram consideradas para a análise da matriz binária. Para cada combinação entre os locais amostrados foi calculada a similaridade, utilizando o Coeficiente Dice pela fórmula  $2h/(a+b)$ , onde “h” é o número de bandas presente e “a+b” o número total com a presença e ausência de bandas (Dice 1945).

Essa matriz foi submetida à análise de conglomerados pelo método da média aritmética não ponderada (UPGMA). Os procedimentos foram realizados através do programa NT-SYSpc 2.01 de Taxonomia Numérica (Rohlf 2000). Para a verificação do ajuste entre a matriz de similaridade e o dendrograma obtido, foi calculado o coeficiente de correlação cofenética (r), segundo Sokal & Rohlf (1962). A estabilidade estatística dos agrupamentos foi estimada pela análise de bootstrap com 1000 replicações através do programa computacional Applied Maths (1998).

A estrutura das populações foi determinada mediante a análise de variância de dados moleculares (AMOVA) mediante a o programa Arlequin (Schneider *et al.* 2000).

### 2.3. Resultados e discussão

Os 10 iniciadores utilizados geraram 101 loci, caracterizando alto nível de polimorfismo entre populações de *C. lacinia saundersii*. O número de bandas geradas pelos iniciadores variou de 5 (OPC-02) a 19 (OPA-05) (Tabela 2.2 Fig. 2.1).



**Figura 2.1.** Variação intra específica OPA-05 produto da amplificação do DNA genômico de populações de *C. lacinia* de Santa Maria RS e Uberaba MG. Como marcador de peso molecular foi utilizado o DNA do fago Lambda digerido com as endonucleases *EcoRI*, *HindIII*, e *BamHI*

Portanto, este último iniciador foi o que proporcionou o polimorfismo mais elevado. O tamanho dos produtos de RAPD variou de 180 a 2564 pb. Não foram observados lócus monomórficos entre as populações analisadas, porém foram observados dentro de cada população (Tabela 2.2).

**Tabela 2.2.** Número de locos de RAPD de *Chlosyne lacinia saundersii*

Primer	Sequência	nº bandas
OPA – 01	5'-CAGGCCCTTC-3'	8
OPA – 05	5'-AGGGGTCTTG-3'	19
OPA – 09	5'-GGGTAACGCC-3'	8
OPA – 17	5'-GACCGCTTGT-3'	10
OPB – 10	5'-GTGAGGCGTC-3'	11
OPC – 02	5'-GTGAGGCGTC-3'	5
OPC – 06	5'-GAACGGACTC-3'	12
OPC – 10	5'-TGTCTGGGTG-3'	8
OPF – 03	5'-CCTGATCACC-3'	11
OPM– 02	5'-ACAACGCCTC-3'	9

O polimorfismo entre as populações variou de 31% a 67%, sendo as com maior número de loci polimórficos (57% e 67%) provenientes de Uberaba e Vilhena, respectivamente. Entretanto, o menor polimorfismo foi detectado na população proveniente de Brasília (31%), seguida pela população de Ribeirão Preto (35%) (Tabela 2.3).

**Tabela 2.3.** Número de bandas polimórficas produzidas pelos iniciadores utilizados para a caracterização de populações de *Chlosyne lacinia saundersii*

Origem da população	nº locus polimórficos (%)
Barreiras	42 (41)
Brasília	31 (30)
Dourados	48 (47)
Londrina	40 (39)
Ribeirão Preto	35 (34)
Santa Maria	46 (45)
Uberaba	58 (57)
Vilhena	68 (67)

A maior parte dos indivíduos provenientes de Barreiras, Brasília, Ribeirão Preto, Dourados, Londrina e Santa Maria agruparam-se em seis grupos principais, de acordo com a sua localização geográfica (Fig. 2.2). Entretanto, os indivíduos provenientes de Uberaba e Vilhena apresentaram semelhança com indivíduos de outros locais. Os insetos que apresentaram menor índice do coeficiente de similaridade foram os pertencentes a população de Ribeirão Preto e Barreiras, e os insetos que apresentaram a maior similaridade foram os coletados na região de Londrina (Fig. 2.2).

As populações mais semelhantes entre si foram as de Londrina, Dourados e Santa Maria, que apresentaram coeficientes de Dice de 0,765 a 0,775, respectivamente (Fig 2.2). A população mais divergente foi a de Vilhena, RO, com coeficiente Dice de 0,695 em relação às populações remanescentes. Esta população foi a que apresentou maior valor de locus polimórficos, diferentemente das populações de Brasília e Ribeirão Preto que foram as menos polimórficas (Tabela 2.3).



Os agrupamentos não se diferenciaram entre si em relação ao polimorfismo da cor apresentado pelas lagartas alaranjadas (rufa), de coloração geral preta e com manchas dorsais alaranjadas (bicolor) até aquelas totalmente pretas e às vezes com pontuações brancas ou amarelas no dorso (nigra). A análise de Bootstrap seguiu uma consistência gerada pelo dendrograma Dice UPGMA em relação aos agrupamentos (Fig. 2.2). Resultados da AMOVA apresentaram um índice de fixação de  $\phi_{st}$  0,34 indicando que 33,64% da variação genética está entre populações e 66,36% da variação ocorreu dentro das populações ( $P < 0.001$ ) (Tabela 2.4).

**Tabela 2.4.** Análise de variância molecular (AMOVA) de oito populações geográficas de *C. lacinia saundersii*

Fonte de variação	g.l.	Soma de quadrados	Componentes da Variância	Porcentagem de variação	Probability	Índice de fixação $\Phi_{st}$
Entre Populações	7	739,452	3,66 (Va)*	33,64	$P < 0,001$	0,34
Dentro de Populações	207	1,495.888	7,23 (Vb)*	66,36	$P < 0,001$	-
Total	214	2,235.340	10,89	-	-	-

\*Va, variância entre populações

\*Vb, variância dentro de populações

Populações da região Sul e Centro Oeste (Londrina, Santa Maria e Dourados) foram geneticamente próximas ( $Dice = 0,76$ ) quanto comparadas com as populações de Vilhena, Uberaba, Barreiras e Ribeirão Preto. A maior dissimilaridade genética ( $Dice = 0,71-0,74$ ) foi observado entre as populações de Vilhena e Uberaba, e a maior heterogeneidade ocorreu na população de Vilhena, onde amostras dessa população foram encontradas dentro de populações de outras localidades.



**Figura 2.2.** Dendrograma de 224 indivíduos de *C. lacinia saundersii* em plantas hospedeiras em oito estados do Brasil. O coeficiente de Dice foi calculado usando a frequência alélica de marcadores RAPD, e o dendrograma foi gerado pelo método da média aritmética não-ponderada (UPGMA). Os valores em % indicam o número de vezes que os insetos agruparam juntos em 1000 ciclos de análise de bootstrap através do programa computacional Applied Maths (1998).

Os índices de fluxo gênico ( $Nm$ ) variaram de 0,9 entre as populações de Londrina e Ribeirão Preto, até 6,7 entre as populações de Vilhena e Uberaba (Tabela 2.5).

**Tabela 2.5.** Comparações pareadas entre populações de *C. lacinia saundersii* através do coeficiente de Nei, para estimativa de fluxo gênico ( $Nm$ )

Valores de $Nm$	Vilhena	Uberaba	Brasília	Ribeirão Preto	Santa Maria	Londrina	Dourados	Barreiras
<b>Vilhena</b>	xxxxxx	6,7	2,3	2,1	2,7	2,1	3,2	2,0
<b>Uberaba</b>		xxxxxx	2,5	2,2	2,9	2,0	2,8	2,1
<b>Brasília</b>			xxxxxx	1,0	1,7	1,2	1,7	1,5
<b>Ribeirão Preto</b>				xxxxxx	1,2	0,9	1,3	1,6
<b>Santa Maria</b>					xxxxxx	1,8	3,5	1,6
<b>Londrina</b>						xxxxxxx	1,9	1,1
<b>Dourados</b>							xxxxxx	1,8
<b>Barreiras</b>								xxxxxx

A estimativa do índice de fluxo gênico entre todas as populações foi de 1,1 relativamente baixo quando comparado a populações de *Anticarsia gemmatilis* (Lepidoptera: Noctuidae), onde o fluxo gênico foi de 3,055 (Sosa-Gómez 2004). De acordo com esse autor, a grande capacidade de vôo desse lepidoptero explicaria a alta similaridade entre as populações, já que as distâncias geográficas entre as populações eram grandes. De maneira inversa populações *C. lacinia saundersii* apresentaram menor similaridade entre elas, conseqüentemente, ocorre menor troca de características genéticas entre essas populações, provavelmente em função da menor área de plantio de girassol, dificultando o fluxo gênico entre as populações.

A área cultivada com girassol no Brasil atualmente é de 150.000 hectares e a com soja de 21 milhões de hectares (CONAB 2009). Devido à continuidade das áreas com a cultura da soja poderia haver o favorecimento de uma maior migração e conseqüentemente maior índice de fluxo gênico para a lagarta-da-soja, em relação a lagarta-do-girassol, dada a relativa descontinuidade de áreas cultivadas com girassol no País.

Por outro lado, à lagarta-do-girassol possui plantas hospedeiras alternativas, principalmente da família Asteraceae (Moscardi 1983, Campos-Farinha *et al.* 1997). Assim, é encontrada alimentando-se principalmente de carrapicho-de-carneiro (*Acanthospermum hispidum*), mal-me-

quer (*Wedelia glauca*), losna-branca (*Parthenium hysterophorus*) e picão-preto (*Bidens pilosa*) (Moscardi *et al.* 2005). Até o momento é desconhecida a relação de associação de genótipos da lagarta-do-girassol em relação a esses hospedeiros naturais. Diferentemente do que ocorre com *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), que apresenta maior similaridade genética entre populações de uma mesma planta hospedeira (McMichael & Pashley 1999, Busato *et al.* 2004), sugerindo que planta hospedeira representa um aspecto importante no processo de seleção natural. Portanto, estudos mais detalhados sobre barreiras geográficas, distribuição e abundância desses hospedeiros podem esclarecer sobre seu impacto no fluxo gênico desta espécie.

Busato *et al.* (2004) avaliaram a diversidade genética de *S. frugiperda* com marcadores AFLP, constatando que as populações estudadas não diferiram entre si, ocorrendo a sobreposição de indivíduos de diferentes populações na cultura do arroz e/ou milho. Conhece-se pouco sobre o comportamento de migração da lagarta-do-girassol. Assim, a origem e frequência de possíveis migrações não são conhecidas para esse inseto-praga ocorrentes na cultura do girassol e de plantas espontâneas no Brasil. Este inseto também ocorre em diversas regiões do país, onde a cultura do girassol está presente, portanto é possível que apresente grande adaptabilidade para diferentes condições de clima e topografia.

Os resultados da AMOVA discriminaram a variabilidade genética de *C. lacinia saundersii*, 33,64 % da variabilidade genética total que pode ser atribuída a diferenças entre populações e 66,36 % a variabilidade dentro das populações, o que é um indicativo que as populações são estruturadas. Valores similares foram obtidos em estudos realizados com *Sternechus subsignatus* (Coleoptera: Curculionidae) com diferença entre as populações de 29% (Sosa-Gómez *et al.* 2008). Já *A. gemmatilis* e *S. frugiperda* apresentaram variações entre suas populações de 14% e 18% respectivamente (Sosa-Gómez 2004, Martinelli *et al.* 2006). Esses valores menores, observados para estas populações podem estar relacionados ao elevado fluxo gênico que ocorre, entre populações dessas espécies.

Os marcadores RAPD utilizados foram eficientes na diferenciação genética das populações de *C. lacinia saundersii*, sendo este o único estudo realizado para esta espécie no presente momento. No entanto, estudos adicionais com marcadores moleculares mais específicos são necessários para compreender melhor como se dá a distribuição dessa espécie.

## 2.4. Literatura Citada

**Applied Maths Bionumerics. 1998.** The integral study of biological relationships. Manual. version 1.01, Kortrijk , Belgium , 154 pp.

**Boiça Jr, A.C. Bolonhezi & Neto Paccini. 1984.** Levantamento de insetos pragas e seus inimigos naturais em girassol (*Helianthus annuus* L.), cultivada em primeira e segunda época, no município de Sevíria-MS. An. Soc. Entomol. Bras. 13: 189-196.

**Brody, J R & S.E. Kern. 2004.** Sodium boric acid: a Tris-free, cooler conductive medium for DNA eletrophoresis. BioTechniques 36:214-216

**Busato, G.R., A.D. Grützmacher, A.C. de Oliveira, E.A. Vieira, P.D.Zimmer, M.M. Kopp, J. de M. Bandeira & T.R. Magalhães. 2004.** Análise da estrutura e diversidade molecular de populações de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) associadas às culturas de milho e arroz no Rio Grande do Sul Neotrop. Entomol. 33: 709-716

**Campos-Farinha A.E.C, N.P.O. Pinto & J.S. Govone. 1997.** Estudo do comportamento e desenvolvimento de lagartas de *Chlosyne lacinia saundersii*, Doubleday & Hewitson (1849)

(Lepidoptera: Nymphalidae), no ataque a uma planta de girassol (*Helianthus annuus* L.). Arq. Inst. Biol. 64:143-147

**Companhia Nacional de Abastecimento. CONAB 2009.** Acompanhamento da safra de girassol  
Disponível <http://www.conab.gov.br/conabweb/download/moc/titulos/T51s2007-2009.pdf>.  
Publicado em 29/09/2009. Acesso em 10 de novembro de 2009.

**Carvalho, A.O.R & L.G.E. Vieira. 2001.** Determinação das condições ótimas para análises de  
PCR-RAPD em *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera: Formicidae). Neotrop. Entomol.  
30: 593-600.

**De Vries P.J. 1987.** The butterflies of Costa Rica and their natural history. Papilionidae, Pieridae,  
Nymphalidae. Princeton University Press, 327p.

**Drés, M. & J. Mallet. 2002.** Host races in plant-feeding insects and their importance sympatric  
speciation. Phil. Trans. Biol. Sci. 357: 471-492.

**Dice, L.R. 1945.** Measures of the amount of ecologic association between species. Ecology 26:297-  
302.

**Gallo D., O. Nakano, S.S. Neto, R.P.L. Carvalho, G.C. Batista, E. Berti Filho, J.R.P. Parra, R.  
A. Zucchi, S.B. Alves, J.D. Vendramim, L.C. Marchini, J.R.S. Lopes & C. Omoto. 2002.**  
Entomologia Agrícola. Piracicaba, FEALQ, 920p.

- Gorodenski, S.A. 1969.** The genetics of three polymorphic larval color forms of *Chlosyne lacinia* (Lepidoptera, Nymphalidae). Genet. Res. 14:332-336.
- Justus, C.M., A. Pasini & E.D.M. Oliveira. 2003.** Biologia e preferência da lagarta do girassol, *Chlosyne lacinia saundersii* (Lepidoptera: Nymphalidae) na planta daninha losna branca, *Parthenium hysterophorus* (Asteraceae). Neotrop. Entomol. 32: 163-166.
- Lazzaroto, J.J., A.R. Roessing & H.C. Mello. 2005.** O agronegócio do girassol no mundo e no Brasil, p.15-42. In: Villas Boas de Campos Leite R M, A.M. Brighenti, C. de Castro, Girassol no Brasil. Londrina, Embrapa Soja. 641p.
- Lopes da Silva, M. & M.M. Casagrande. 2003.** Color polymorphism and allele frequency in a Brazilian population of the sunflower caterpillar *Chlosyne lacinia saundersii* (Dobleday) (Lepidoptera: Nymphalidae). Neotrop. Entomol. 32:159-161.
- Lopes-da-Silva M., G.E.L. Tonet, L.G.E. & Vieira. 2004.** Characterization and genetic relationships among Brazilian biotypes of *Schizaphis graminum* (Rondani) (Hemiptera: Aphididae) using RAPD markers. Neotrop. Entomol. 33: 43-49.
- Lougheed, S.C., H.L. Gibbs, K.A. Prior & P.J. Weatherhead. 2000.** A comparison of RAPD versus microsatellite DNA markers in population studies of the Massasauga rattlesnake. J. Hered. 91: 458-463.

- Maranhão, Z.C. 1945.** *Chlosyne lacinia saundersii*, praga do girassol. Rev. Agricultura, Piracicaba, 20:5-6.
- Moscardi, F. 1983.** Plantas hospedeiras da lagarta-do-girassol, *Chlosyne lacinia saundersii*, no Estado do Paraná. In: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisa de Soja, Londrina, PR. Resultados de Pesquisa de Girassol 1982. Londrina, 25-26.
- Moscardi, F., D.R. Sosa-Gómez & I.C. Corso. 2005.** Invertebrados associados ao girassol e seu manejo, p. 471-500 In: Villas Boas de Campos Leite R.M, A.M. Brighenti, Castro C de. Girassol no Brasil. Londrina, Embrapa Soja. 641p.
- Nakano, O., S. Silveira Neto & R.A. Zucchi. 1981.** Entomologia Econômica. Piracicaba, Livroceres, 314p.
- Neck, R.W., L. Bush & B.A. Drummond Iii. 1971.** Epistasis, associated lethals and brood effect in larval colour polymorphism of the patch butterfly *Chlosyne lacinia* Geyer. Heredity 26: 73-84.
- Oliveira, C.M., M.H. Fungaro, L.E.A. Camargo & J.R.S. Lopes. 2002.** Análise comparativa da estabilidade de *Dalbulus maidis* (Delong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae) sobre diferentes métodos de preservação uso de RAPD-PCR. Neotrop. Entomol. 31: 225-231.
- Rohlf, F.J. 2000.** Ntsys-Pc Numerical taxonomy and multivariate analysis system version 2.1. Exeter Software, Setauket, Ny.



- Rogers, S.O. & A.J. Bendich. 1988.** Extration of DNA from plant tissues. Plant molecular biology Manual 6: 1-10.
- Silva, A.G.A., C.R. Gonçalves, D.M. Galvão, A.J.L. Gonçalves, J. Gomes, M.N. Silva & L. Simoni. 1968.** Quarto catálogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil; seus parasitos e predadores. Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura/laboratório central de patologia vegetal, 622p.
- Sokal, R.R. & F.J. Rohlf. 1962.** The comparison of dendrograms by objective methods. Taxon 11: 30-40.
- Sosa-Gomez, D.R., R.A. Humber & F. Moscardi. 2002.** Entomopathogens associated with soybean/wheat production systems in Brazil and Argentina. VIII International Colloquium on Invertebrate Pathology and Microbial Control. XXXV Annual Meeting of the Society of Invertebrate Pathology. VI International Congress of *Bacillus thuringiensis*. August 18 to 23, 75p.
- Sosa-Gómez, D.R. 2004.** Intraspecific variation and population structure of the velvetbean caterpillar, *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Insecta: Lepidoptera: Noctuidae). Genet. Mol.Biol. 27: 378-384.
- Takami, Y., C. Koshio, M. Ishii & H. Fujii. 2004.** Genetic diversity and structure of urban populations of *Pieris* butterflies assessed using amplified fragment length polymorphism. Mol. Ecol. 13: 245-258.

- Ungaro, M.R.G. 1981.** Recomendações técnicas para o cultivo do girassol. Correio Agrícola Bayer 2: 314-319.
- Villas-Boas, G.L., F. Moscardi & B.S. Corrêa-Ferreira. 1981.** Levantamento de insetos-pragas do girassol e seus inimigos naturais. In: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. Resultados de pesquisa de girassol. Londrina 15-18.
- Villas-Boas, G.L. & F. Moscardi. 1985.** Levantamentos de insetos pragas no girassol e seus inimigos naturais. In: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. Resultados de pesquisa de girassol. Londrina 9-12.
- Williams, J.G., A.R. Kubelik, K.J. Livak, L.A. Rafalski & S.V. Tingey. 1990.** DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Res. 18:6531-6535.
- Yeh, F.C. & T.B.J. Boyle. 1997.** POPGENE Microsoft Windows-based software for population genetic analysis. A joint project development by Francis C. Yeh, University of Alberta and Tim Boyle, Center for International Forestry Research, Bogor, Indonesia. 29p.
- Zucchi, R.A., S. Siveira Neto & O. Nakano. 1993.** Guia de identificação de pragas agrícolas. Piracicaba, FEALQ, 139p.

## CAPÍTULO 3

### **Preferência para oviposição e ocorrência da lagarta-do-girassol (*Chlosyne lacinia saundersii*) Doubleday & Hewitson, (1849) (Lepidoptera: Nymphalidae) em diferentes plantas hospedeiras**

#### **3.1. Introdução**

A redução na produção da cultura do girassol está relacionada a uma série de problemas fitossanitários. Dentre as pragas, destacam-se: a lagarta do girassol, *Chlosyne lacinia saundersii* Doubleday & Hewitson, que tem sido relatada como a principal praga da cultura (Vendramim & Boiça Jr 1994), seguida de percevejos (Hemiptera) e vaquinhas (Coleoptera: Chrysomelidae. Esse lepidóptero pode causar danos de importância econômica, provocando intensos desfolhamentos durante a fase larval (Nakano *et al.* 1981), chegando a uma redução de 85% de área foliar. Segundo Lourenção & Ungaro (1983), avaliando o ataque dessa praga em 18 cultivares de girassol, em condições de campo, a a desfolha pode variar de 19 a 57,8%.

O primeiro registro da ocorrência de *C. lacinia saundersii* foi feito por Maranhão (1945). Silva *et al.* (1968) relatam lagartas dessa espécie em girassol cultivado, *Helianthus annuus* e *tupinambur*, *Helianthus tuberosus* (Asteraceae). Biezanko *et al.* (1974) citam que as lagartas de *C. lacinia saundersii* alimentam-se de três espécies de *Helianthus*: *H. annuus*, *H. tuberosus* e *H. debilis*. Um dos aspectos importantes no controle de insetos é o conhecimento de hospedeiros alternativos, que permitem a continuidade do seu no campo, possibilitando a ocorrência de várias gerações ao longo do ano (Forti 1990, Moscardi *et al.* 2005), podendo influenciar na distribuição e na abundância de pragas. São relatadas 14 espécies de plantas como hospedeiras de *C. lacinia saundersii* na região de Londrina, sendo 12 espécies pertencentes à família Asteraceae tais como:

carrapicho-de-carneiro, *Acanthospermum hispidum*; cravorana, *Ambrosia polystachia*; picão-preto, *Bidens pilosa*; serralha, *Emilia sonchifolia*; picão-branco, *Galinsoga parviflora*; girassol, *H. annuus*; losna-branca, *Parthenium hysterophorus*; maria-mole, *Senecio brasiliensis*; serralha-lisa, *Sonchus oleraceus*; assa-peixe, *Vermonia* sp; malmequer, *Wedelia glauca* e o malmequer *Wedelia paludosa*. Além disso, uma Leguminosae, soja, *Glycine max* e uma Rubiaceae, *Richardia brasiliensis* são relatadas como hospedeiras da lagarta-do-girassol (Moscardi 1982).

Segundo Silva (1998) existem poucos estudos relativos à bioecologia de *C. lacinia saundersii*, sendo que a maior parte dos trabalhos se restringe aos métodos químicos. Assim, este trabalho teve como objetivo testar a preferência dos adultos de *C. lacinia saundersii* para alimentação, oviposição e o número de lagartas/planta hospedeira, na presença e na ausência do girassol, para que seja possível elaborar novas estratégias de controle que sejam fundamentadas biologicamente

### 3.2. Material e Métodos

O experimento foi conduzido na área experimental da Embrapa Soja, em Londrina (23° 11'29 74" S 51° 10' 59 93" O), PR. Para a realização desse trabalho foi construído uma estrutura do tipo telado medindo 8 x 6 x 3,5, com quatro blocos com nove tratamentos na primeira etapa (1º época) e cinco tratamentos na segunda etapa (2º época).



**Figura 3.1.** Estrutura (telada) construída para avaliar a preferência dos adultos da lagarta-do-girassol *Chlosyne lacinia saundersii*, quanto a alimentação, oviposição e o número de lagartas após o 3º instar em plantas hospedeiras, em londrina, PR, período de 05/11/2008 a 10/03/2009.

### 3.2.1. Criação das lagartas

Massas de ovos foram coletadas em plantio de girassol da área experimental, cada massa foi individualizada e colocada em placas de Petri (6 x 15 mm), que foram mantidas em B.O.D  $26 \pm 1^\circ\text{C}$ ; UR:  $70 \pm 10\%$ , fotofase de 12h. Após a eclosão, as lagartas foram transferidas para caixas de plástico (20 x 20 x 25 cm), alimentadas com folhas de girassol da cultivar Embrapa 122-V2000, permanecendo até a emergência de adultos. Após a emergência, os adultos foram sexados e 20 casais foram transferidos para o telado em cada bloco.(Figura 3.1).

### 3.2.2. Condução do experimento

O experimento constituiu-se de duas etapas, sendo na primeira (1ª época) efetuado o plantio em vasos das seguintes espécies de plantas hospedeiras: losna-branca (*Parthenium hysterophorus*); carrapicho-de-carneiro (*Acanthospermum hispidum*); picão-preto (*Bidens pilosa*); fazendeiro (*Galinsoga ciliata*); erva-de-touro (*Tridax procubens*), soja (*Glycine max*); maria-mole (*Senecio brasiliensis*); falsa-serralha (*Emilia sonchifolia*); serralha (*Sonchus oleraceus*). Na segunda etapa (2ª época), foram oferecidas, além do girassol (cv Embrapa 122- V 2000), as plantas hospedeiras identificadas como preferenciais pelo inseto para oviposição na primeira etapa, que foram: losna-branca, carrapicho-de-carneiro; picão-preto; fazendeiro; erva-de-touro.

### 3.2.3. Avaliação

Após 50 dias do plantio das plantas hospedeiras, foram liberados 20 casais de *C. lacinia saundersii* por bloco do telado, para ambas as épocas e avaliou-se o comportamento na preferência por alimento dos adultos em quatro tempos após a liberação (30', 60', 90' e 120' min), respectivamente. Posteriormente, foi avaliada, semanalmente, o número de posturas (massas de ovos) e o número de lagartas/planta.

### 3.2.4. Análise estatística

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições. As variáveis respostas consideradas neste trabalho foram: número de lagartas, massas de ovos (postura) e número de adultos visitando as plantas hospedeiras. Inicialmente foram realizados testes

estatísticos para verificar se todos os pressupostos requeridos pela análise de variância (ANOVA) foram atendidos. Em seguida, realizaram-se as análises de variâncias e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade (SAS Institute 1996).

### 3.3. Resultados e discussão

Losna-branca se destacou como a planta preferencial para alimentação dos adultos, tanto na ausência do girassol (1º época), como na presença do girassol (2º época), com médias de 1,81 e 2,05 indivíduos/planta, respectivamente. Carrapicho-de-carneiro nas duas épocas foi a segunda planta na preferência dos adultos, com média de 1,5 e 1,17. Porém, no segundo teste (2º época) comparado com o girassol, não foi observada diferença entre eles (Tabela 3.1).

**Tabela 3.1.** Média de adultos de *C. lacinia saundersii* em diferentes plantas hospedeiras na 1ª época (sem a presença do girassol) e na 2ª época (com a presença do girassol e as plantas hospedeiras pré – selecionadas pelo inseto).

Plantas/ hospedeiras	1º época	2º época
	Nº de adultos (média/planta)	
Losna Branca	1,81 a	2,05 a
Carrapicho de Carneiro	1,5 b	1,17 b
Girassol	-	0,97 bc
Picão Preto	0,81 c	0,71 cd
Fazendeiro	0,75 c	0,67 d
Erva de Touro	0,37 d	0,55 d
Soja	0,26 de	-
Maria Mole	0,13 ef	-
Serralha	0,08 ef	-
Falsa-serralha	0,05 f	-
C.V	25,4	28

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Nas plantas hospedeiras soja, maria-mole, falsa-serralha e serralha (Tabela 3.1) foram observado apenas os adultos de *C. lacinia saundersii* se alimentando. Não foram observadas posturas, nem a migração de lagartas, após o terceiro instar para essas plantas, como acontece com hospedeiros preferenciais, considerando-se o comportamento gregário dessas lagartas (Boiça Jr *et al.* 1993; Moscardi *et al.* 2005). Esses dados são diferentes dos obtidos por Moscardi, (1982) e Campos-Farinha *et al.* (1997), que citam essas plantas como hospedeiras de *C. lacinia saundersii*.

Losna-branca também se destacou na preferência do inseto para a oviposição, para a 1ª época, sendo observada uma média de 1,40 massas de ovos. Essa planta também apresentou um número médio de lagartas superior às demais plantas hospedeiras testadas. Em função do seu hábito gregário até o final do 3º instar, o número de lagartas foi contado após esse período, registrando-se 118,6 lagartas em plantas de losna-branca ou seja, 1,75 vezes mais lagartas do que em carrapicho de carneiro. Embora essa hospedeira também, tenha se destacado na 1ª época mantendo a preferência do inseto tanto em massa de ovos (0,70) como em número de lagartas (67,80) em relação a outras plantas daninhas como o fazendeiro, picão-preto e erva-de-touro (Tabela 3.2).

Na presença do girassol (2ª época) não houve diferença significativa para número de lagartas e massa de ovos em relação à losna-branca sendo, respectivamente, de 82,00 e 1,00 para o girassol e 68,8 e 0,70 para a losna-branca (Tabela 3.2). Justus *et al.* (2003) realizaram testes de biologia e preferência da lagarta-do-girassol na losna-branca em relação ao girassol e observou que o girassol foi o alimento preferencial, que a losna-branca é um bom hospedeiro alternativo para essa lagarta.



**Tabela 3.2.** Média de lagartas de *Chlosyne lacinia saundersii* e massas de ovos em diferentes plantas hospedeiras, em duas épocas, com ou sem a presença do girassol

Plantas/ hospedeiras	1 <sup>a</sup> época	
	Nº de lagartas (média)	Nº de massas de ovos (média)
Losna-Branca	118,60 A	1,40 A
Carrapicho-de-Carneiro	67,80 B	0,70 B
Fazendeiro	14,15 C	0,20 C
Picão-Preto	13,45 C	0,15 C
Erva-de-Touro	9,30 C	0,10 C
C.V (%)	50,71	13,43

Plantas hospedeiras	2 <sup>a</sup> época	
	Nº de lagartas (média)	Nº de massas de ovos (média)
Girassol	82,00 A	1,00 A
Losna-Branca	68,80 AB	0,70 AB
Carrapicho-de-Carneiro	34,05 BC	0,40 BC
Fazendeiro	14,75 C	0,15 C
Picão-Preto	13,95 C	0,15 C
Erva-de-Touro	9,35 C	0,10 C
C.V (%)	89,02	16,51

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Plantas da família Asteraceae, como losna-branca e o carrapicho-de-carneiro, são encontradas na maior parte do ano no norte do Paraná, inclusive dentro do campo experimental onde foi realizado todo o trabalho. Portanto, a escolha do hospedeiro pela fêmea pode acarretar implicações ecológicas e evolucionárias para a progênie e o desempenho larval pode ser muito afetado por essa escolha (Thompson, 1988). Adicionalmente, pode existir uma pressão seletiva para que as fêmeas coloquem seus ovos em hospedeiros disponíveis, com alta qualidade de recursos, conforme observado por Prince (1997), com a *Phyllocnistis citrella* (autor, ordem e família), possivelmente por ser inseto de hábito minador, obrigatoriamente, terá que permanecer no hospedeiro escolhido. No caso da lagarta-do-girassol, essa pressão seletiva pelo melhor hospedeiro pode ser fortemente exercida pois, até o final do terceiro instar, as lagartas permanecem agrupadas na mesma folha (Thorne 1962, Bush 1969, Stamp 1977, De Vries 1987, Boiça Jr *et al.* 1993, Justus *et al.* 2003, Moscardi *et al.* 2005).

Dessa maneira, é possível que a lagarta-do-girassol permaneça em plantas hospedeiras nutricionalmente adequadas enquanto não há girassol disponível no campo. Isso pode indicar, também, que parte da população sobrevive durante o inverno nessas plantas hospedeiras, como ocorre com *Anticarsia gemmatilis*. Esse inseto parte do ano parte do ano se alimenta de *Indigofera hirsuta* L. (falso anil) e soja perene (Panizzi dados não publicados), em regiões de inverno menos rigoroso. Assim sendo, a disponibilidade de plantas hospedeiras adequadas durante todo o ano pode ser um fator importante para aumentar a população da lagarta-do-girassol, atingindo populações que podem ocasionar danos econômicos durante o período de produção do girassol. No Brasil, apesar da importância de *C. lacinia saundersii*, como principal praga do girassol (Gallo *et al.* 2002), não há estudos dedicados a bioecologia e o impacto de plantas hospedeiras alternativas sobre sua ocorrência, bem como sua biologia. O conhecimento das plantas hospedeiras, conforme gerado no presente trabalho, é importante para o estudo da flutuação populacional da espécie, bioecologia e manejo da cultura.

### 3.3. Literatura Citada

- Banzatto, D.A. & S.N. Kronka. 1992.** Experimentação Agrícola. Jaboticabal, **Funep**. 247p.
- Barros, E.M. & J.B. Torres. 2009.** História de vida de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em algodoeiro, milho, milheto e soja. VII Congresso Brasileiro do Algodão, Foz do Iguaçu, PR. 443p.
- Biezanko, C.M., A.Ruffinelli & D. Link. 1974.** Plantas y otras sustancias alimenticias de las orugas de los Lepidopteros Uruguayos. Rev. Centro de Ciencias Rurais, Santa Maria 4:107-148.

- Boiça Júnior, A.L.; A.C Bolonhezi & J. Paccini Neto. 1984.** Levantamento de insetos-pragas e seus inimigos naturais em girassol (*Helianthus annuus* L.), cultivada em primeira e segunda época, no município de Selvíria-MS. An. Soc Entomol Bras.13: 189-196.
- Bush, G.L. 1969.** Trail laying by larvae of *Chlosyne lacinia* Geyer. Ann. Entomol. Soc. Am. 62: 674-675.
- De Vries P.J. 1987.** The butterflies of Costa Rica and their natural history. Papilionidae, Pieridae, Nymphalidae. Princeton University Press, 327p.
- Campos-Farinha, A.E.C., N.P.O, Pinto & J.S. Govone. 1997.** Estudo do comportamento e desenvolvimento de lagartas de *Chlosyne lacinia saundersii*, Doubleday & Hewitson (1849) (Lepidoptera: Nymphalidae), no ataque a uma planta de girassol (*Helianthus annus* L.). Arq Inst Biol 64: 143-147.
- Forti, L.C. 1990.** Ecologia no manejo integrado de pragas. In: W.B Crocomo (ed.). Manejo integrado de pragas, Botucatu, CETESB. 350 p.
- Gallo, D.; O. Nakano, S. Silveira Neto, R. P. L. Carvalho, G. C. de Baptista, E. Berti Filho, J. R. P. Parra, R. A. Zucchi, S. B. Alves, J. D. Vendramim, L. C. Marchini, J. R. S. Lopes & C. Omoto. 2002.** Entomologia Agrícola. Piracicaba, FEALQ, 920 p.

- Justus, C.M., A. Pasini & E.D.M. Oliveira. 2003.** Biologia e preferência da lagarta do girassol, *Chlosyne lacinia saundersii* (Lepidoptera: Nymphalidae) na planta daninha losna branca, *Parthenium hysterophorus* (Asteraceae). Neotrop. Entomol. 32:163-166.
- Lourenção, A.L. & M.R. Ungaro. 1983.** Preferência para alimentação de lagartas de *Chlosyne lacinia saundersii* Doubleday & Hewitson, 1849 em cultivares de girassol. Bragantia. 42:281-286.
- Maranhão, Z.C. 1945.** *Chlosyne lacinia saundersii*, praga do girassol. Rev. Agricultura, Piracicaba. 20:5-6.
- Moscardi, F. 1982.** Plantas hospedeiras da lagarta do girassol, *Chlosyne lacinia saundersii*, no Estado do Paraná. Londrina, EMBRAPA/CNPSo, 25-26.
- Moscardi, F. D.R. Sosa-Gómez. & I.C. Corso. 2005.** Invertebrados associados ao girassol e seu manejo. In: Girassol no Brasil. (Eds), Londrina: Embrapa Soja, p.471-500.
- Nakano, S. Silveira Neto & R.A. Zucchi. 1981.** Entomologia econômica. Piracicaba, Livroceres, 314p
- Prince, P.W. 1997.** Insect ecology, 3 ed-Wiley. New York. 853p.
- SAS Institute. 1996.** SAS Propriety Software Release 6.12. SAS-STAT User's guide. Vol II. SAS Institute, Cary, N.C. 1686p.

**Silva, A.G.A., C.R. Gonçalves, D.M. Galvão, A.J.L. Gonçalves, J. Gomes, M.N. Silva & L.**

**Simoni. 1968.** Quarto catálogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil; seus parasitos e predadores. Rio de Janeiro, Misnistério da Agricultura/Laboratório Central de Patologia Vegetal, 622p.

**Silva, M.L. 1998.** Aspecto da morfologia, polimorfismo, efeitos da densidade populacional e da planta hospedeira no desenvolvimento dos imaturos de *Chlosyne lacinia saundersii* Doubleday, 1847 (Lepidoptera: Nymphalidae). Dissertação de mestrado, UFPR. Curitiba, 75p.

**Stamp, N.E. 1977.** Aggregation behavior of *Chlosyne lacinia* larvae (Nymphalidae). J. Lep. Soc. 31: 35-40

**Thompson, J.N. 1988.** Evolutionary ecology of the relationship between oviposition preferente and performance of offspring in phtophagus insects. Entomologia Experimentalis et Applicata. 47:3-14.

**Thorne, F. 1962.** Larval notes on *Chlosyne lacinia* and *Chlosyne californica*. J. Lep. Soc. 16:61.

**Vendramim, J.D. & A.L. Boiça JR. 1994.** Efeito de cultivares de girassol sobre o desenvolvimento e a preferência para a alimentação de *Chlosyne lacinia saundersii* Doubl. & Hew. (Lepidoptera: Nymphalidae). An. Soc. Entomol. 23:81-86.

## CAPÍTULO 4

### **Parâmetros biológicos e fisiológicos de *Chlosyne lacinia saundersii* Doubleday & Hewitson (Lepidoptera: Nymphalidae) em diversas plantas hospedeiras.**

#### **4.1. Introdução**

A redução na produção da cultura do girassol, esta relacionada a uma serie de problemas agronômicos como doenças e as pragas. Dentre estes, destacam-se como pragas a lagarta do girassol, *Chlosyne lacinia saundersii* Doubleday, que tem sido relatada como a principal praga da cultura (Vendramim & Boiça Jr. 1994), seguida de percevejos e vaquinhas. Esse lepidoptero pode assumir importância econômica por provocar intensos desfolhamentos durante a fase larval (Nakano *et al.* 1981), chegando a uma redução de 85% de area foliar. Segundo Lourenção & Ungaro (1983), avaliando o ataque dessa praga em 18 cultivares de girassol, em condições de campo, encontram uma variação na desfolha entre 19 e 57,8%.

O primeiro registro de ocorrência de *C. lacinia saundersii* é atribuído a Maranhão (1945). Silva *et al.* (1968) relatam lagartas dessa espécie em girassol cultivado, *Helianthus annuus* e *tupinambur*, *Helianthus tuberosus*. Biezanko *et al.* (1974) citam que as lagartas de *C. lacinia saundersii* alimentam-se de três espécies de *Helianthus*: *H. annuus*, *H. tuberosus* e *H. debilis*. Um dos aspectos importantes no controle de pragas é o conhecimento de hospedeiros alternativos, que permitem a continuidade do seu desenvolvimento no campo, durante várias gerações ao longo do

ano (Forti 1990), podendo influenciar na distribuição, abundância do inseto. São relatadas 14 espécies de plantas como hospedeiras de *C. lacinia saundersii* na região de Londrina, sendo 12 espécies pertencentes à família Asteraceae tais como: carrapicho-de-carneiro, *Acanthospermum hispidum*; cravorana, *Ambrosia polystachia*; picão-preto, *Bidens pilosa*; serralha, *Emilia sonchifolia*; picão-branco, *Galinsoga parviflora*; girassol, *H. annuus*; losna-branca, *Parthenium hysterophorus*; maria-mole, *Senecio brasiliensis*; serralha-lisa, *Sonchus oleraceus*; assa-peixe, *Vermonia* sp; malmequer, *Wedelia glauca* e o malmequer *Wedelia paludosa*. Além disso, uma Leguminosae, soja, *Glycine max* e uma Rubiaceae, *Richardia brasiliensis* são relatadas como hospedeiras da lagarta-do-girassol (Moscardi 1982). Segundo Silva (1998), existem poucos estudos relativos à bioecologia de *C. lacinia saundersii*, sendo que a maior parte dos trabalhos cita o controle químico do inseto. Para fornecer subsídios no controle da lagarta-do-girassol, avaliou-se o efeito de diferentes plantas hospedeiras no crescimento, consumo alimentar, eficiência na assimilação e conversão dos alimentos ingeridos e digeridos em biomassa da lagarta do girassol.

## 4.2. Material e métodos

### 4.2.1. Seleção e plantio das plantas hospedeiras

O experimento foi conduzido na área experimental da Embrapa Soja, em Londrina, PR. O capítulo anterior descreve a metodologia para a seleção das plantas hospedeiras para a realização da biologia. As plantas pré-selecionadas foram as Asteraceae: Losna-branca *Parthenium hysterophorus*; carrapicho-de-carneiro *acanthospermum hispidum*; picão-preto *Bidens pilosa*; fazendeiro *Galinsoga ciliata*; erva-de-touro *Tridax procubens* e girassol *Helianthus annuus*. As sementes para o plantio foram coletadas dentro da fazenda da Embrapa Soja e semeadas em oito vasos para cada planta hospedeira. A cada 40 dias foi realizado um novo plantio para ter sempre folhas novas e em boas condições de consumo pelas lagartas.

#### 4.2.2. Preparo das folhas

As folhas foram coletadas no mesmo horário em dias alternados, ou conforme a necessidade do inseto, levadas ao laboratório e pesadas em balança de precisão (Celtac FA 2104N). Após a pesagem, os pecíolos das folhas foram enrolados com algodão e umedecida com água destilada, com exceção da folha de girassol que foi cortada em disco de 4cm de diâmetro. Para manter a umidade, água destilada foi gotejada no papel filtro colocado na base da placa de Petri.

#### 4.2.3. Coleta dos insetos

As lagartas foram coletadas em girassol, na fazenda da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, em Londrina, PR (latitude 23° 18' S) e acondicionadas em caixas plásticas (20 x 20 x 25 cm), forradas com papel filtro. As lagartas foram alimentadas com folhas de girassol da variedade Embrapa 122-V2000 até a fase de pré-pupa. No laboratório, foram mantidas em B.O.D a  $26 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ; UR:  $70 \pm 10\%$ , fotofase de 12h. Após a emergência os adultos foram sexados e transferidos para o telado, onde foram liberados 20 casais por bloco, com quatro repetições e seis tratamentos. Após 10 dias da liberação dos adultos de *C. lacinia saundersii*, foram coletadas 15 massas de ovos por planta hospedeira (tratamento). As massas de ovos foram levadas ao laboratório e acondicionadas em placas de Petri (9cm de diâmetro) contendo folhas da mesma planta hospedeira de onde foi coletado os ovos no telado e mantidas até sua emergência. Para iniciar a biologia padronizou-se as datas de eclosão.

#### 4.2.4. Condução do experimento

Para avaliação da biologia de *C. lacinia saundersii*, 60 lagartas no início do 3º instar foram individualizados em placas de Petri (9cm) contendo folhas de uma das plantas hospedeiras e,



mantidas em estufas incubadoras tipo B.O.D a  $27 \pm 1^\circ\text{C}$ ; UR:  $90 \pm 10\%$ , fotofase de 12h. O alimento foi renovado em dias alternados, ou conforme a necessidade. As lagartas foram avaliadas diariamente, observando-se a mortalidade e o tempo de desenvolvimento de cada estágio. Por ocasião da individualização, foi avaliado o peso fresco inicial e seco.

Para a obtenção do peso seco inicial das lagartas, cinco lagartas por tratamento foram pesadas e posteriormente, foram mortas por congelamento, secas em estufa por 72h ( $60^\circ\text{C}$ ) e novamente pesadas. O fator de correção do peso seco médio inicial foi calculado pela divisão entre o peso seco e fresco das lagartas sendo o valor obtido multiplicado pelo peso fresco de cada lagarta do experimento. O mesmo procedimento foi adotado para o cálculo do peso seco das folhas oferecidas aos insetos; após a pesagem, cinco folhas por tratamento foram secas (72h,  $60^\circ\text{C}$ ) e, novamente, pesadas para a obtenção do fator de correção peso fresco/peso seco. Os restos de folha não consumidas pelas lagartas, remanescente na placa, foram separados das fezes, sendo ambos secas em estufa (72h,  $60^\circ\text{C}$ ) e, posteriormente, pesados. Para a obtenção da quantidade da folha consumida pelas lagartas subtraiu-se do peso seco (peso fresco corrigido pelo fator de correção) da folha intacta, antes de ser consumida pela lagarta, o peso seco de folhas remanescentes.

As pré-pupas permaneceram nas placas em condições controladas de temperatura, luz e umidade, conforme descritas acima. Após 48h da transformação, as pupas foram congeladas, secas em estufa (72h a  $60^\circ\text{C}$ ) e, em seguida, pesadas.



**Figura 4.1.** Bandejas mantidas em estufas incubadoras tipo B.O.D a  $27 \pm 1^\circ\text{C}$ ; UR:  $90 \pm 10\%$ , fotofase de 12h com placas de Petri contendo folhas de losna-branca para a realização do bioensaio dos parâmetros biológicos e fisiológicos da *C. lacinia saundersii*.

#### 4.2.5. Análise Estatística

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado, com seis tratamentos, representados pelos hospedeiros girassol, losna-branca, fazendeiro, erva-de-touro e picão-preto, com 60 repetições por tratamento. As avaliações de parâmetros biológicos do inseto foram feitas diariamente até o estágio de pupa. As variáveis respostas consideradas neste trabalho foram: mortalidade de lagartas em todos os instares, mortalidade total de lagartas, peso inicial (mg) (fresco e seco), peso seco de pupa (mg), tempo de desenvolvimento em todos os instares (dias), tempo total de alimentação (dias), peso seco de dieta consumida (mg) e peso seco de fezes (mg).

A mortalidade foi analisada pelo teste de qui-quadrado ( $\chi^2$ ), conforme Banzatto & Kronka (1992), ao nível de 5% de probabilidade. As demais variáveis foram analisadas considerando-se três

etapas. Na primeira, realizou-se testes estatísticos que verificaram todos os pressupostos requeridos pela análise de variância (ANOVA). Em seguida, foram realizadas as análises de variância, sendo as médias comparadas pelo testes de Tukey-Kraemer para tratamentos, ao nível de 5% de probabilidade. Na última etapa, foram realizadas as análises de covariância (ANCOVA), para avaliar o efeito das covariáveis sobre as variáveis de respostas. A ANCOVA foi utilizada para estimar o crescimento, consumo alimentar, eficiência na assimilação e conversão dos alimentos ingeridos e digeridos em biomassa, além do ganho de peso. Esta análise foi proposta por Raubenheimer & Simpson (1992) como alternativa para os índices nutricionais de Waldbauer (1968), considerando-se que esse método padrão tem mostrado problemas metodológicos (Schmidt & Reese 1986; Van Loon 1991) e estatísticos (Raubenheimer 1995, Raubenheimer & Simpson 1992).

O crescimento e o consumo dos insetos nos diferentes tratamentos foram obtidos pelo ajuste, respectivamente, do peso de pupa e da quantidade de dieta consumida, pela covariável tempo de desenvolvimento. O ganho de peso foi estimado através do ajuste de peso de pupa pela covariável peso inicial. Para se obter a eficiência de conversão dos alimentos ingeridos e digeridos em biomassa, o peso de pupa, nos diferentes tratamentos foi ajustado, respectivamente, pela quantidade de dieta consumida e digerida [peso de pupas ajustado pela covariável alimento digerido (consumo – fezes)], em biomassa. A assimilação dos alimentos foi obtida através da correção da quantidade de fezes produzidas pela covariável quantidade de dieta consumida.

Após a realização da ANCOVA, quando a interação entre a covariável e o tratamento foi significativa, considerou-se o efeito dos tratamentos ajustados pela covariável. Entretanto, se a interação (covariável x tratamento) não foi significativa, utilizou-se o modelo de linhas paralelas, considerando-se somente o efeito dos tratamentos. Ainda, quando a interação entre tratamento e covariável não foi significativa, mas ambos os fatores o foram, as médias foram comparadas através

das médias da ANCOVA, ou médias dos quadrados médios, que nesse caso, são apresentadas como gráficos inseridos na respectiva figura.

Para as análises estatísticas deste trabalho foi utilizado o pacote estatístico SAS-Statistical Analysis System (SAS Institute 1996)

### 4.3. Resultados e Discussão

O teste de  $\chi^2$  (5:  $p > 0,05$ ) indica que as diferenças na porcentagem de mortalidade ocorreram em função dos tratamentos. A maior mortalidade ocorreu quando as lagartas foram alimentadas com folhas de erva-de-touro, seguida por aquelas que se alimentaram de folhas de fazendeiro (Tabela 4.1), no 3º e 7º instares respectivamente.

**Tabela 4.1.** Porcentagem de mortalidade de *Chlosyne lacinia saundersii* acondicionadas em placas de Petri e mantidas em estufas incubadoras tipo B.O.D a  $27 \pm 1^\circ\text{C}$ ; UR:  $90 \pm 10\%$ , fotofase de 12h alimentadas com diferentes plantas hospedeiras, para a realização do bioensaio dos parâmetros biológicos e fisiológicos da *C. lacinia saundersii*.

Tratamento	Ínstar					Total (n=110)
	3º (n=75)	4º	5º	6º (n=6)	7º (n=29)	
Girassol	7	-	-	50	0	7
Losna-branca	15	-	-	17	10	14
Fazendeiro	24	-	-	0	14	20
Erva-de-touro	33	-	-	33	69	43
Picão-preto	21	-	-	0	7	16
$P > \chi^2$	0,0005	-	-	0,000001	0,000001	0,000001

Através da ANOVA, observou-se efeito significativo dos tratamentos em todas as variáveis, ou seja, nos pesos inicial das lagartas (final do 3º ínstar), peso de pupa, peso de dieta consumida, peso de fezes e tempo de alimentação (Tabela 4.2).

O picão-preto foi o alimento que mais intensamente afetou o peso inicial das lagartas (Tabela 4.2) enquanto o maior peso inicial foi observado quando as lagartas comeram folhas de losna-branca. O maior peso de pupa foi observado nas lagartas alimentadas com folhas de girassol, seguidas de picão preto. As lagartas alimentadas com folhas de losna consumiram mais alimento, seguidas de daquelas alimentadas com picão preto, erva de touro e fazendeiro. O menor consumo foi observado nas lagartas que comeram girassol. A menor quantidade de fezes foi observada quando as lagartas foram alimentadas com folhas de picão-preto e fazendeiro. Lagartas criadas em losna-branca e girassol produziram maior quantidade de fezes quando comparada com os demais tratamentos. O tempo de alimentação das lagartas foi mais rápido para as lagartas que comeram folhas de girassol e mais lento nas lagartas alimentadas com folhas de picão-preto e erva-de-touro.

**Tabela 4.2.** Peso inicial de lagartas 3º instar (mg), peso seco de pupa (mg), dieta consumida (mg), peso seco de fezes (mg) e tempo de alimentação (dias) (média  $\pm$  EP) de *Chlosyne lacinia saundersii* alimentadas com folhas de diferentes plantas hospedeiras acondicionadas em placas de Petri e mantidas em estufas incubadoras tipo B.O.D a  $27 \pm 1^\circ\text{C}$ ; UR:  $90 \pm 10\%$ , fotofase de 12h para a realização do bioensaio dos parâmetros biológicos e fisiológicos.

Tratamento	Peso seco (mg)				Tempo de Alimentação (dias)
	Inicial	Pupa	dieta consumida	Fezes	
Girassol	$1,14 \pm 0,03$ b	$44,13 \pm 1,98$ a	$179,38 \pm 11,60$ c	$105,13 \pm 4,25$ a	$8,70 \pm 0,30$ c
Picão-preto	$0,29 \pm 0,03$ d	$31,97 \pm 2,09$ a	$277,15 \pm 12,27$ b	$84,54 \pm 4,49$ b	$20,70 \pm 0,33$ a
Losna-branca	$2,38 \pm 0,03$ a	$21,01 \pm 2,36$ b	$370,20 \pm 13,84$ a	$118,68 \pm 5,07$ a	$14,03 \pm 0,37$ b
Erva-de-touro	$0,47 \pm 0,06$ c	$18,90 \pm 3,92$ b	$239,34 \pm 22,95$ bc	$101,78 \pm 8,41$ ab	$19,17 \pm 0,60$ a
Fazendeiro	$0,50 \pm 0,34$ c	$15,80 \pm 2,36$ b	$289,61 \pm 13,84$ b	$84,65 \pm 5,07$ b	$14,90 \pm 0,37$ b
Valor de F	30,40***				

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey e Kraemer a 5% de probabilidade ( $P < 0,05$ ) \*\*\*  $P < 0,001$

A análise de covariância indicou não haver efeito interativo entre os tratamentos e as covariáveis peso inicial (Tabela 4.3a), tempo de alimentação (Tabela 4.3c), dieta consumida (Tabela 4.3e), alimento digerido (Tabela 4.3g) em suas relações com o peso de pupa. Porém, observou-se interação significativa entre covariável tempo de alimentação e os tratamentos (Tabela 4.3c) na estimativa do consumo do inseto. Além disso, na avaliação da assimilação do alimento, estimada pela relação consumo (covariável) e quantidade de fezes produzidas (Tabela 4.3e) também foi observado efeito interativo da covariável nos tratamentos.

Na avaliação do ganho de peso (peso inicial x peso de pupa) observou-se que independente da espécie de hospedeiro todos os tratamentos apresentaram inflexões negativas nas retas observadas (Fig 4.2), indicando que os insetos com pesos iniciais maiores não necessariamente foram os que ganharam mais peso. Entretanto, quando se observa a figura 4.2 algumas particularidades podem ser observadas. Os hospedeiros oferecidos para os insetos formaram três grupos bem distintos, sendo no primeiro observado fazendeiro, picão-preto e erva de touro. Nesse os insetos apresentaram pequena amplitude de pesos iniciais e ganho de peso intermediário, em picão-preto e baixo, nos outros hospedeiros. Já no segundo e terceiro grupos se observa que os insetos alimentados com girassol e losna-branca tenderam respectivamente a uma amplitude intermediária e maior de pesos iniciais, mas apenas as pupas oriundas das lagartas alimentadas com girassol atingiram pesos mais elevados. Entretanto, como apenas se observou efeito principal dos tratamentos e não da covariável, as diferenças observadas pela ANOVA são consideradas válidas, confirmando que o maior peso de pupa foi observado nos tratamentos girassol seguido de picão-preto, comparados com os demais pelo teste Tukey-Kraemer.

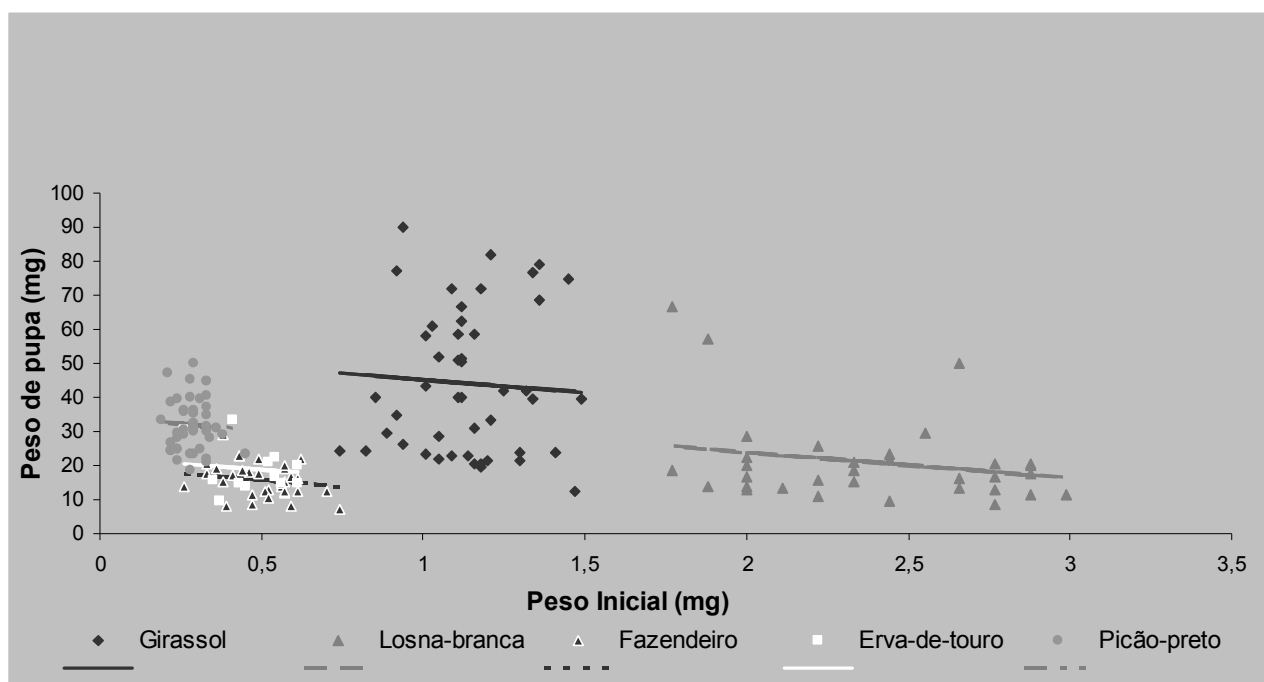
**Tabela 4.3.** Análise de covariância (ANCOVA) para verificar o efeito dos diferentes tratamentos no ajuste de peso de pupa pela covariável peso inicial (a, b), peso de pupa pelas covariáveis tempo de alimentação e consumo (c,d,e,f), consumo pela covariável tempo de alimentação (c,d), peso de fezes pela covariável consumo (e), peso de pupa pela covariável alimento digerido (g,h) em *Chlosyne lacinia saundersii*.

Variação	Valor de F			
	GL	Peso de pupa	Consumo	Peso de Fezes
(a) Peso inicial (covariável)	1	4,10 <sup>ns</sup>		
Tratamento	4	0,54*		
Peso inicial x tratamento	4	0,81 <sup>ns</sup>		
Resíduo	166			
(b) Tratamento	4	39,90*		
Peso inicial	1	4,12 <sup>ns</sup>		
Resíduo	166			
(c) Tempo de alimentação (covariável)	1	0,32 <sup>ns</sup>	11,77***	
Tratamento	4	0,36 <sup>ns</sup>	37,38***	
Tempo de alimentação x tratamento	4	0,33 <sup>ns</sup>	3,65**	
Resíduo	166			
(d) Tratamento	4	22,87***		
Tempo de alimentação	1	0,32 <sup>ns</sup>		
Resíduo	166			
(e) Consumo (covariável)	1	18,54**		25,24***
Tratamento	4	1,19 <sup>ns</sup>		2,12 <sup>ns</sup>
Consumo x Tratamento	4	1,69 <sup>ns</sup>		2,47*
Resíduo	166			
(f) Tratamento	4	38,75***		
Consumo	1	10,36**		
Resíduo	166			
(g) Alimento Digerido (covariável)	1	0,42 <sup>ns</sup>		
Tratamento	4	2,76*		
Alimento Digerido x Tratamento	4	0,26 <sup>ns</sup>		
Resíduo	166			
(h) Tratamento	4	20,83***		
Alimento Digerido	1	0,43 <sup>ns</sup>		

\* P < 0,05, \*\*\* P < 0,001, ns-não significativo

Na estimativa de consumo, calculado pelo ajuste da dieta consumida pelo tempo de alimentação, todos os tratamentos apresentaram relação positiva com a covariável tempo de alimentação (Fig.

4.3a), com exceção do o picão-preto. A relação positiva indica que ao aumentar o tempo de desenvolvimento, o inseto aumentou o consumo. No entanto, no caso do picão preto, as lagartas que aumentaram o tempo de alimentação não foram aquelas que consumiram maior quantidade de alimento.

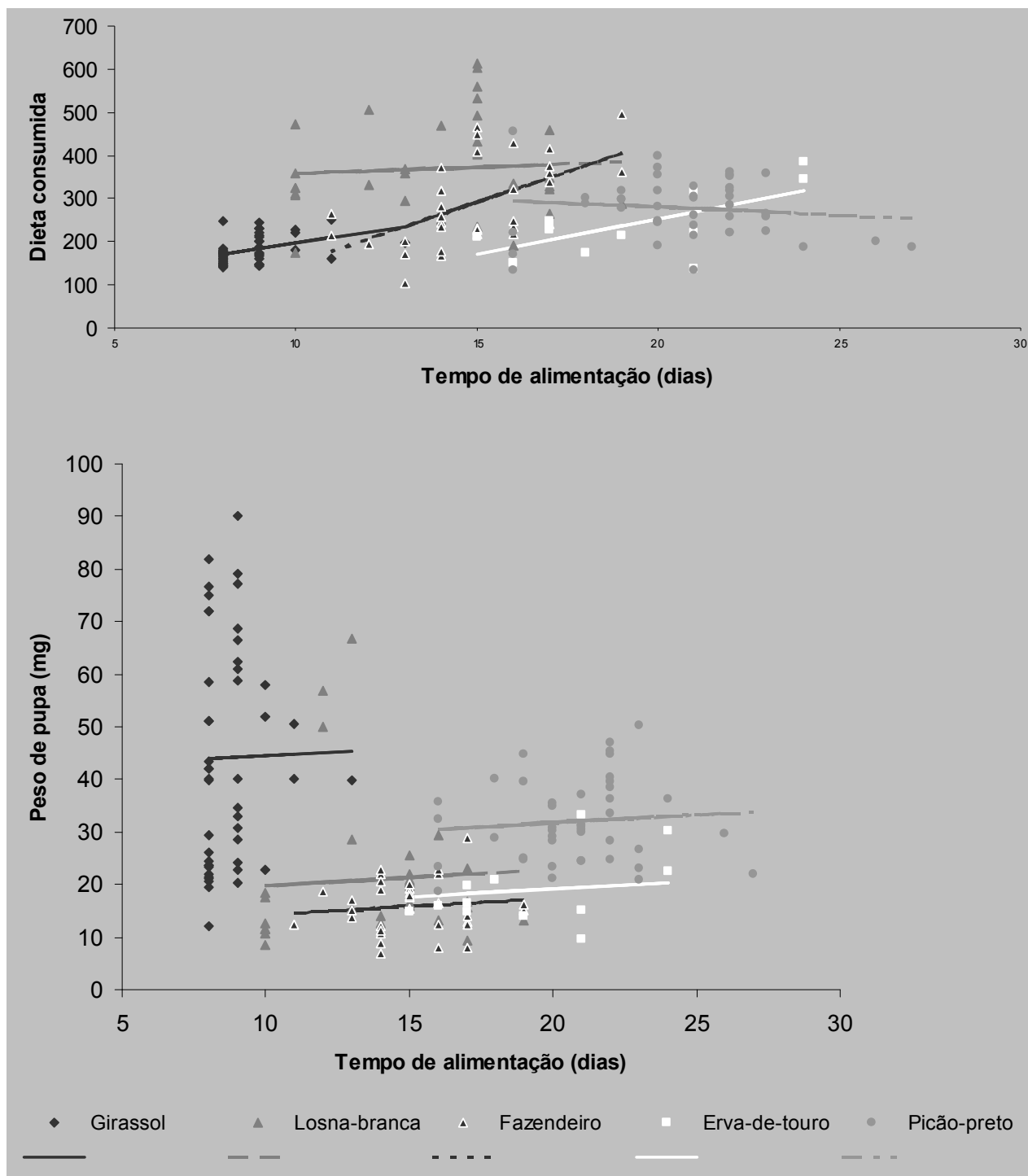


**Figura 4.2.** Relação entre peso de pupa (mg) e peso inicial de lagartas (mg) de *Chlosyne lacinia saundersii* alimentada com folhas de diferentes plantas hospedeiras.

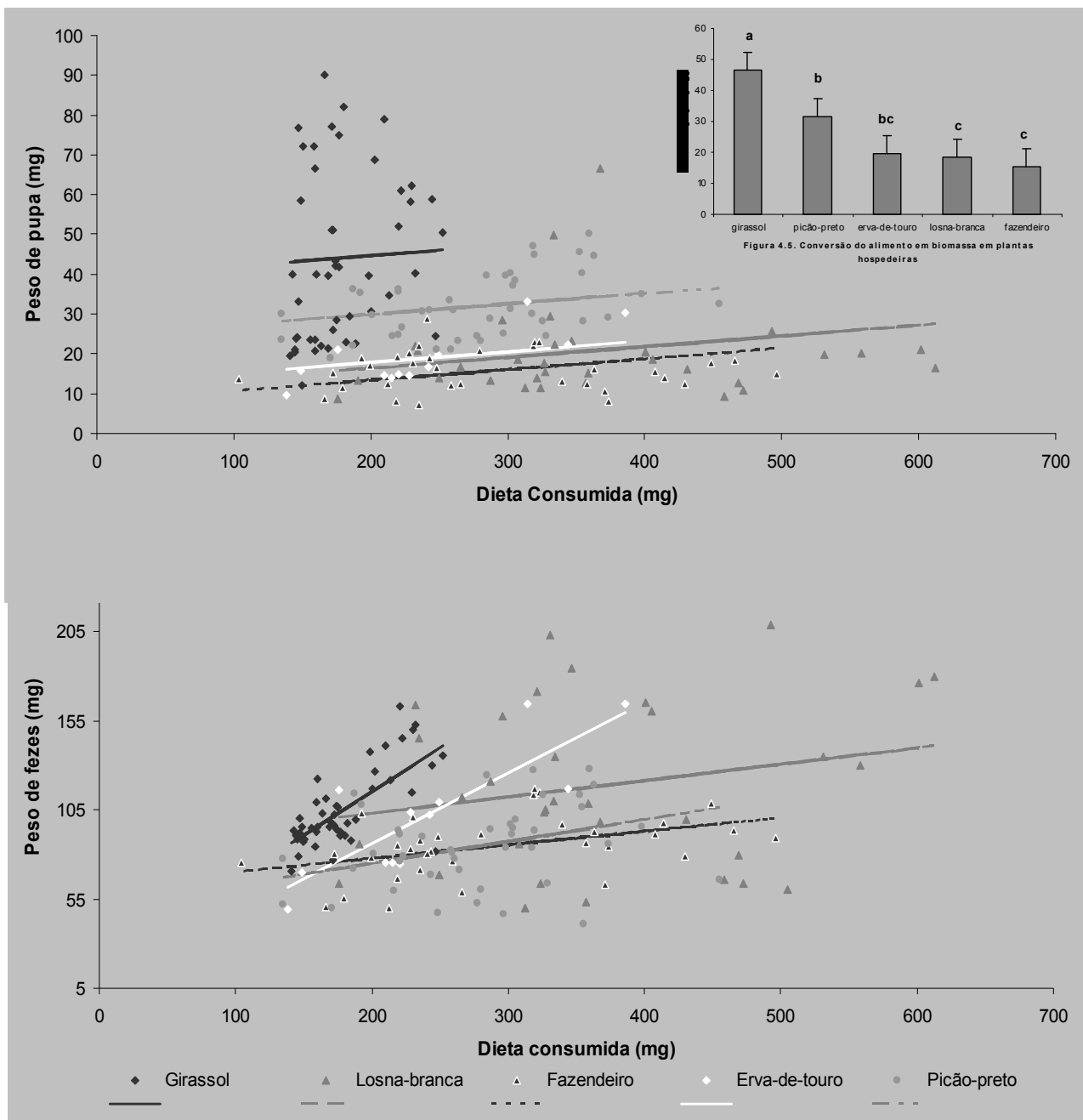
Na avaliação do crescimento (peso de pupa corrigido pela covariável tempo de alimentação) também se observou uma relação positiva entre os dois fatores (Fig. 4.3b), Como não foi observado efeito interativo entre os tratamentos (plantas hospedeiras) e covariável (tempo de alimentação) o crescimento do inseto pode ser representada pelo modelo de linhas paralelas. Embora positiva, a inflexão das retas de tendência foi pequena, e mesmo se alimentando por um tempo maior as lagartas deram origem a pupas com pesos muito semelhantes. Na avaliação da eficiência da conversão do alimento ingerido (peso de pupa ajustado pela covariável consumo) e assimilação (peso de fezes corrigido pelo consumo) as interações tratamento x covariável (consumo) não foi



significativa. Dessa forma, essas relações podem ser representadas pelo modelo de linhas paralelas (Figs 4.4 a e b).



**Figuras 4.3. a e b.** Relação entre a quantidade de dieta consumida (mg) com o peso de pupa (mg) e o tempo de alimentação (dias) de *Chlosyne lacinia saundersii* alimentada com folhas de diferentes plantas hospedeiras.



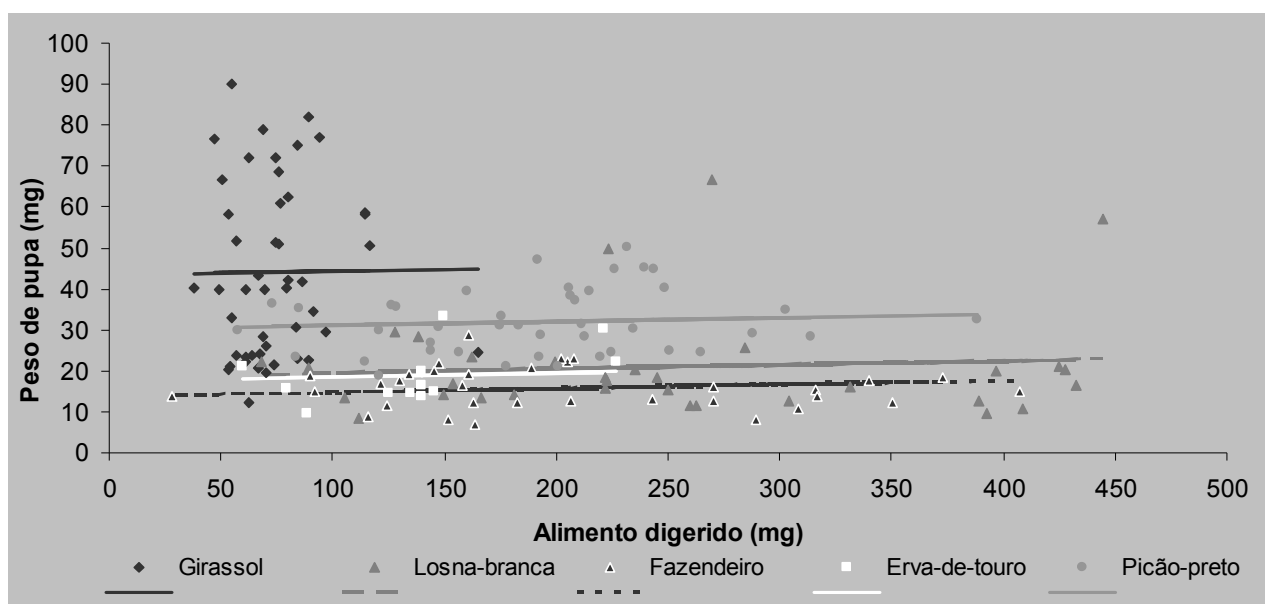
**Figuras 4.4. a e b.** Relação entre a quantidade de dieta consumida (mg) com o peso de pupa (mg) e o peso de fezes (mg) de *Chlosyne lacinia saundersii* alimentada com folhas de diferentes plantas hospedeiras.

Entretanto, o efeito principal dos tratamentos e da covariável (consumo), embora não-interativo, foi significativo na estimativa da conversão do alimento inserido (consumo) em biomassa. As lagartas alimentadas com girassol e picão-preto apresentaram uma melhor conversão do alimento consumido em biomassa (Fig 4.5) inserida na figura 4.4 a.

Já as lagartas alimentadas com folhas de erva-de-touro, losna-branca e fazendeiro foram menos eficientes, ou seja, maior consumo das lagartas não resultou em aumento proporcional do peso das pupas. Apenas o tratamento afetou significativamente o peso de fezes e, nesse caso, a inflexão das retas que representam a assimilação dos alimentos ou seja o peso de fezes ajustado pelo consumo foi positiva, indicando quanto maior o consumo, maior a produção de fezes (Fig 4.4b).

O peso de pupa foi afetado pelos tratamentos sem interferência interativa do alimento digerido (Fig 4.6). Assim, a relação entre o peso de pupa e o alimento digerido (covariável) foi positiva, com pequenas inflexões das retas dos dados ajustados sugerindo que mesmo aumentando drasticamente a quantidade de alimento digerido, o aumento dos pesos foi pequeno.

Dentre todos os tratamentos estudados, as maiores porcentagens de mortalidade foram observadas em insetos alimentados com folhas de erva-de-touro e fazendeiro. Em geral os insetos apresentaram mortalidade mais acentuada no 3º instar (início do experimento), o que pode ser atribuído também ao fator de desagregação dessas lagartas, que possuem vida gregária até o 3º instar (Moscardi *et al.* 2005). Mais tarde foi observado mortalidade nos últimos instares (6º e 7º) quando, em geral, ocorre maior consumo alimentar. Conseqüentemente, o inseto ingere maior quantidade de aleloquímicos presentes nas folhas das plantas hospedeiras.



**Figura 4.6.** Relação entre peso de pupa (mg) e quantidade de alimento digerido (mg) de *Chlosyne lacinia saundersii* alimentada com folhas de diferentes plantas hospedeiras.

Lagartas alimentadas com folhas de losna-branca atingiram maior peso inicial (2,38mg) e maior consumo de folhas (370,20mg), entretanto isso não refletiu no peso final da pupa que foi de 21,01mg e no tempo de desenvolvimento que foi de 14,03 dias, quando comparado a lagartas que consumiram folhas de girassol que foi de 44,13mg e 8,70 dias respectivamente. Curto tempo de alimentação, pesos de lagartas e/ou de pupas elevados e baixos índices de mortalidade, são parâmetros que indicam adequada taxa de crescimento para insetos (Soo Hoo & Frankel 1966). Todas as plantas hospedeiras com exceção do girassol foram ingeridas em maior quantidade o que possivelmente se deve a alguma forma de adaptação dos insetos a inadequações nutricionais na falta do girassol. Esse fator também foi observado por Crócomo & Parra (1985) onde, lagartas da mesma espécie, apresentaram uma resposta compensatória diante da menor qualidade nutricional do alimento, ingerindo-o em maior quantidade.

Insetos com maior número de mortalidade o prolongamento no tempo de alimentação pode ser devido ao fato destes tentarem atingir o peso ideal para chegar a fase de pupa e posterior

reprodução, conseqüentemente, isso os torna mais predispostos a fatores naturais de mortalidade (Piubelli 2004). Este fenômeno também foi observado por Piubelli (2004) e Hoffmann-Campo *et al.* (2006) que, estudando aspectos biológicos de *Anticarsia gemmatalis* com dietas acrescidas do flavonóide rutina, observaram um prolongamento no tempo de alimentação. Esse fenômeno ficou especialmente evidente em lagartas alimentadas com picão-preto, que apresentaram menor peso inicial, mas aumentaram o seu tempo de desenvolvimento, consumiram maior quantidade de folhas e produziram menos fezes quando comparadas com as aquelas alimentadas com girassol. Possivelmente, com estas estratégias, consegui atingir o peso de pupa menor que as de girassol porém, maior do que as das lagartas que se alimentaram com os demais tratamentos.

Segundo Raubenheimer & Simpson (1994), gráficos de dispersão bicoordenados podem distinguir quando um alimento afetou o inseto quantitativamente, ou qualitativamente, ou seja, diferenças na eficiência de utilização de um determinado nutriente, que altera a sua ingestão por um inseto pode afetá-lo de forma quantitativa. No entanto, quando o efeito é resultado de um outro fator, como a presença de toxinas no alimento, a influência no inseto é causada por um fator qualitativo. As figuras, 4.3a, 4.3b e 4.4 mostram um fator qualitativo bastante acentuado indicando que além das variações nutricionais entre os hospedeiros, possivelmente, existam diferentes aleloquímicos afetando o desempenho das lagartas, em especial, aquelas alimentadas com erva-de-touro e fazendeiro; as retas que representam esses tratamentos, em geral, apresentaram menores inflexões. Além disso, observa-se que nesses hospedeiros, as lagartas apresentaram, em geral, o desempenho menos adequado, ou seja, menores pesos inicial e de pupa e menor consumo, quando comparadas com os demais tratamentos.

No início do desenvolvimento, no terceiro instar, as lagartas que se alimentaram de losna-branca apresentaram o maior peso, Entretanto, apresentaram a menor sobrevivência, o seu ganho de peso foi pequeno e produziram pupas com peso semelhante ao das lagartas que se alimentaram de erva de touro e fazendeiro e mais leves do que aquelas do girassol e do picão. Ainda, as lagartas

alimentadas com losna-branca consumiram a maior quantidade de alimento, mas também produziram mais fezes. Possivelmente a baixa conversão de alimento consumido e digerido em biomassa e menor assimilação (grande produção de fezes).

#### 4.4. Literatura Citada

**Banzatto, D.A. & S.N. Kronka. 1992.** Experimentação Agrícola. Jaboticabal, Funep. 247p.

**Biezanko, C.M., A.Ruffinelli & D. Link.1974.** Plantas y otras substancias alimenticias de las orugas de los Lepidopteros Uruguayos. Rev. Centro de Ciencias Rurais, Santa Maria. 4:107-148.

**Crócomo, W.B. & J.R.P. Parra. 1985.** Consumo e utilização de milho, trigo e sorgo por *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). Rev. Bras. Entomol. 29: 225-260.

**Forti, L.C. 1990.** Ecologia no manejo integrado de pragas. In: W.B Crocomo (ed.). Manejo integrado de pragas, Botucatu, CETESB. 350 p.

**Hoffmann-Campo, C.B., J.A. Ramos Neto, M.C. Oliveira & L.J. Oliveira. 2006.** Detrimental effect of rutina on *Anticarsia gemmatalis*. Pesqu. Agropecu. Brás. 41:1453-1459.

- Lourenção, A.L. & M.R. Ungaro. 1983.** Preferência para alimentação de lagartas de *Chlosyne lacinia saundersii* Doubleday & Hewitson, 1849 em cultivares de girassol. *Bragantia*. 42:281-286.
- Maranhão, Z.C. 1945.** *Chlosyne lacinia saundersii*, praga do girassol. *Rev. Agricultura*, Piracicaba. 20:5-6.
- Moscardi, F. 1982.** Plantas hospedeiras da lagarta do girassol, *Chlosyne lacinia saundersii*, no Estado do Paraná. . Londrina, EMBRAPA/CNPSo, 25-26.
- Nakano O., S. Silveira Neto & R.A. Zucchi. 1981.** *Entomologia Econômica*. Piracicaba, Livrocercos, 314p
- Parra, J.R.P. 1991.** Consumo e utilização de alimento por insetos, p.9-65. In A.R.Panizzi & J.R.P. Parra (eds.), *Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas*. São Paulo, Manole, 359p.
- Piubelli, G.C. 2004.** Bioatividade de genótipos de soja resistentes a *A. gemmatilis* Hubner (Lepidoptero: Noctuidae) e interações de suas substâncias químicas com inimigos naturais. Tese de doutorado, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 152p.
- Raubenheimer, D. & S.J. Simpson. 1992.** Analysis of covariance: an alternative to nutritional indices. *Entomol. Exp. Appl.* 62:221-231,
- Raubenheimer, D & S.J. Simpson 1994.** The Analysis of nutrient budgets. *Funct. Ecol.* 8:783-791.

**Raubenheimer, D. 1995.** Problems with ratio analysis in nutritional studies. *Funct. Ecol.* 9:21-29.

**SAS Institute. 1996.** SAS Propriety Software Release 6.12. SAS-STAT User's guide. Vol II. SAS Institute, Cary, N.C. 1686p.

**Schmidt, D.J & J.C. Reese. 1986.** Sources of errors in nutritional index studies of insects on artificial diet. *J. Insect. Physiol.* 32:193-198.

**Silva, A.G.A., C.R. Gonçalves, D.M. Galvão, A.J.L. Gonçalves, J. Gomes, M.N. Silva & L. Simoni. 1968.** Quarto catálogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil; seus parasitos e predadores. Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura/laboratório central de patologia vegetal, 622p.

**Silva, M.L. 1998.** Aspecto da morfologia, polimorfismo, efeitos da densidade populacional e da planta hospedeira no desenvolvimento dos imaturos de *Chlosyne lacinia saundersii* Doubleday, 1847 (Lepidoptera: Nymphalidae). Dissertação de mestrado, UFPR. Curitiba, 75p.

**Soo Hoo, C.F. & G. Frankel. 1966.** The selection of food plants in a polyphagus insect, *Prodenia eridania* (Cramer). *J. Insect. Physiol.* 12:693-709.

**Van Loon, J.J.A. 1991.** Measuring food utilization in plant feeding insects - towards a metabolic and dynamic approach, p. 79-124. In: E.A. BERNAYS (ed.), *Insect-plant Interactions*, Vol. III, CRC Press, 258p.



- Vendramim, J.D. & A.L. Boiça JR. 1994.** Efeito de cultivares de girassol sobre o desenvolvimento e a preferência para a alimentação de *Chlosyne lacinia saundersii* Doubl. & Hew. (Lepidoptera: Nymphalidae). An. Soc. Entomol. 23:81-86.
- Waldbauer, G.P. 1968.** The consumption and utilization of food by insects. Adv. Insect. Physiol. 5: 229-288.

## CAPÍTULO 5

### **Infestação da lagarta-do-girassol) *Chlosyne lacinia saundersii* Doubleday & Hewitson, (1849) (Lepidoptera: Nymphalidae) em genótipos de girassol na região de Londrina, PR.**

#### **5.1. Introdução**

O girassol, *Helianthus annuus* L.(Asteraceae), planta originária da América do Norte, é cultivada em várias partes do mundo com aproximadamente 18 milhões de hectares plantados. No Brasil, a cultura evoluiu de 5 mil hectares para 150.000 hectares na safra 2007/2008 (CONAB 2008). Junto com o crescimento da cultura apareceram os problemas fitossanitários. Um dos mais relevantes vem sendo a ocorrência de diversos insetos, dentre eles a espécie *Chlosyne lacinia saundersii* Doubleday & Hewitson (1849) (Lepidoptera: Nymphalidae). As lagartas de *C. lacinia saundersii*, de acordo com o nível de infestação, podem provocar desfolhas de até 100%, deixando, neste caso, apenas as nervuras das folhas nas plantas atacadas. Moscardi & Villas Boas (1982) estudaram o efeito do desfolhamento uniforme distribuído em cinco níveis (0, 25, 50, 75 e 100%), a partir do estágio de formação do botão floral, sobre o rendimento, o peso de 200 sementes, o diâmetro do capítulo e a altura de plantas de girassol; baseando-se nos estádios de desenvolvimento propostos por Siddiqui *et al.* (1975), e verificaram que os estádios da metade da floração e  $\frac{3}{4}$  da floração mostraram-se como os mais críticos da desfolha.

O controle de *C. lacinia saundersii* no Brasil se restringe aos métodos químicos. Assim, métodos alternativos de controle devem ser pesquisados, dentre os quais pode ser citado o que utiliza a resistência de plantas, normalmente considerado o método ideal de controle tanto ecológica

como economicamente. A resistência de plantas é uma tática eficaz para o controle de pragas, uma vez que é compatível com outros métodos de controle, e frequentemente exhibe efeitos sinérgicos com inseticidas e inimigos naturais (Kogan 1989). Apesar de importantes, estudos visando a obtenção de resistência a *C. lacinia saundersii* em girassol são escassos. Lourenção & Ungaro (1983), avaliando o ataque dessa praga em 18 cultivares de girassol, em condições de campo, encontraram uma variação na desfolha entre 19,0 e 57,8%, o que pode evidenciar a ocorrência de resistência varietal nos cultivares plantados

Como a maioria das aplicações de inseticidas na cultura do girassol são realizadas visando o controle de *C. lacinia saundersii*, a obtenção de cultivares resistentes a essa praga proporcionaria grande redução no uso de inseticidas nessa cultura. Com o objetivo de encontrar uma ou mais variedades tolerante(s)e/ou resistente(s) a praga, o presente trabalho avaliou a ocorrência dessa lagarta em 11 híbridos e uma variedade, em condições de campo durante duas épocas de cultivo no período de três anos consecutivos.

## **5.2. Material e Métodos**

O experimento foi conduzido na área experimental da Embrapa Soja, em Londrina (23° 11'29 74" S 51° 10' 59 93" O), PR. Foi utilizada uma área onde se realiza plantio direto, sendo cultivada com girassol em semeadura de primeira época (setembro) e de segunda época (dezembro) para os três anos (2006, 2007 e 2008).

### **5.2.1. Instalação do experimento**

Cada parcela foi composta de 5 linhas de 6,0m de comprimento, espaçadas em 0,80m. A distância adotada entre plantas foi de 0,30m totalizando, portanto 21 covas por linha, sendo semeadas quatro sementes por cova. A emergência ocorreu cerca de oito dias após o plantio, sendo que depois de sete dias realizou-se o desbaste, ajustando o estande para 21 plantas por linha. Foram seguidas todas as práticas culturais recomendadas para a cultura, com exceção de aplicação de inseticidas (Silveira *et al.* 2005) (Tabela 5.1).

**Tabela 5.1.** Sementes de girassol utilizadas para a realização do experimento nas safras de 2006 a 2008, em Londrina PR, para avaliar a infestação de *Chlosyne lacinia saundersii*.

Material/Nome	Semente	Ciclo
AGB 960	Híbrido	Precoce
AGUARÁ 3	Híbrido	Médio
AGUARÁ 4	Híbrido	Precoce
BRHS 01	Híbrido	Precoce
BRHS 03	Híbrido	Precoce
BRHS 05	Híbrido	Precoce
BRHS 09	Híbrido	Precoce
CATISSOL 01	Variedade	Médio Polinização aberta
HELIO 251	Híbrido	Médio
HELIO 358	Híbrido	Precoce
M 734	Híbrido	Médio
MG 50	Híbrido	Médio

### 5.2.2. Avaliações

As avaliações foram iniciadas 30 dias após o plantio, de acordo com a metodologia de Boiça-Júnior & Vendramin (1993), através da análise visual de dano pela lagarta em 2m lineares de plantas de girassol, totalizando, em média, 10 plantas por parcela.



**Figura 5.1.** Parcelas com 12 genótipos de girassol para avaliação da ocorrência de *C. lacinia saundersii* em Londrina PR, safras 2006 a 2008.

### 5.2.3. Análise Estatística

O delineamento foi o de blocos casualizados com 12 tratamentos e quatro repetições, utilizando-se o teste de variância (ANOVA), sendo as médias, em cada data de amostragem, comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Também foram realizadas análises de medidas repetidas no tempo e análises multivariadas, em virtude da possível falta de homogeneidade de variâncias entre os “t” tempos.

### 5.3. Resultados e Discussão

Observou-se que não houve diferença significativa de infestação da lagarta, nos genótipos avaliados para a primeira época de plantio (setembro), nos três anos de avaliação, em função da baixa ocorrência do inseto (dados não mostrados). Já para a segunda época de plantio (dezembro), no primeiro ano de avaliação, os tratamentos distribuíram-se no intervalo de 37,75% (AGUARÁ3) a 75,25% (CATISSOL01) de plantas atacadas. No segundo ano, essa infestação foi menor, ficando entre 25,00% (AGUARÁ3) a 63,50% (CATISSOL01), e no último ano foi de 37,75% (AGUARÁ3) a 64,75% (MG50) (Tabela 5.2). Alguns genótipos não mostraram o mesmo comportamento em relação ao ataque das lagartas nos três anos, como é o caso de AGB 960, que no primeiro ano apresentou maior ataque de lagartas e nos dois últimos anos, situou-se entre aqueles de baixa infestação nas plantas. O inverso ocorreu com os tratamentos M734 e BRHS05, com menor intensidade de infestação no primeiro ano e com ataque relativamente alto no segundo e terceiro anos de avaliação.

Pelos dados médios obtidos durante os três anos de cultivo, foram constatadas diferenças estatísticas entre a cultivar. CATISSOL01 e o híbrido MG50 onde tiveram infestação significativamente superior à registrada em AGUARÁ 3 e AGUARÁ 4, sugerindo que estas apresentam certa resistência ao ataque de *C. lacinia saundersii*, concordando com relatos apresentados por Lourenção & Ungaro (1983). Com respeito às causas da resistência a insetos, Rogers (1979) observou forte relação inversa entre a pigmentação de antocianina nos tecidos vegetativos da planta de girassol e a suscetibilidade ao ataque de alguns insetos. Ainda segundo esse autor, a resistência devida à antocianina parece expressar-se como antixenose, ou não preferência, uma vez que lagartas de *Cynthia cardui* L., também um ninfalídeo, evitam plantas pigmentadas se outras sem essas características estiverem disponíveis.

**Tabela 5.2.** Média de porcentagem de infestação de *Chlosyne lacinia saundersii* em 12 genótipos de girassol, nas safras 2006, 2007 e 2008 em Londrina PR.

GENÓTIPO	2006	GENÓTIPO	2007	GENÓTIPO	2008
CATISSOL 01	75,25a	CATISSOL 01	63,50a	MG50	64,75a
MG50	71,25a	MG50	61,00ab	CATISSOL 01	63,753a
HÉLIO 251	68,00a	BRHS05	56,75abc	BRHS03	61,25ab
BRHS03	67,00ab	BRHS03	56,75abc	BRHS05	59,25abc
BRHS09	67,00ab	BRHS09	55,50abcd	BRHS09	58,25abc
ABB960	66,25ab	M734	53,50abcd	M734	58,25abc
BRHS05	64,75ab	HÉLIO 251	52,50abcd	HÉLIO 251	55,50abc
BRHS01	64,50ab	BRHS01	49,25bcd	BRHS01	53,00bc
M734	62,75ab	ABB960	47,00cd	HÉLIO 358	50,00cd
AGUARÁ4	49,00bc	HÉLIO 358	42,25cd	ABB960	49,25cd
HÉLIO 358	42,50c	AGUARÁ4	32,50ef	AGUARÁ4	41,25de
AGUARÁ3	37,75c	AGUARÁ3	25,00f	AGUARÁ3	37,75e
CV	23,01		18,05		15,52

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

Nota-se, também, através da Figura 5.2 que o início da infestação de *C. lacinia saundersii* se inicia aos 54 dias após o plantio e o maior percentual de ataque varia de acordo com o genótipo e o nível de ocorrência da lagarta, pois alguns como o AGUARÁ 3 e 4 apresentam maiores infestações somente no final da safra, o que não necessariamente seria escolha do inseto, mas sim por ser final de ciclo da cultura e falta de opção. Para estudos mais detalhados com respeito a preferência desses tratamentos, experimentos em laboratório relacionados a chance de escolha, bem como de biologia e nutrição poderiam confirmar tal preferência. Verificou-se, ainda, que para vários genótipos a infestação se deu aos 65 dias. Já Boiça Jr & Vendramin (1993), com semeadura realizada em final de outubro obtiveram maior infestação aos 75 dias após o plantio, porém, para os genótipos plantados em fevereiro essa infestação se deu aos 45 dias após o plantio.

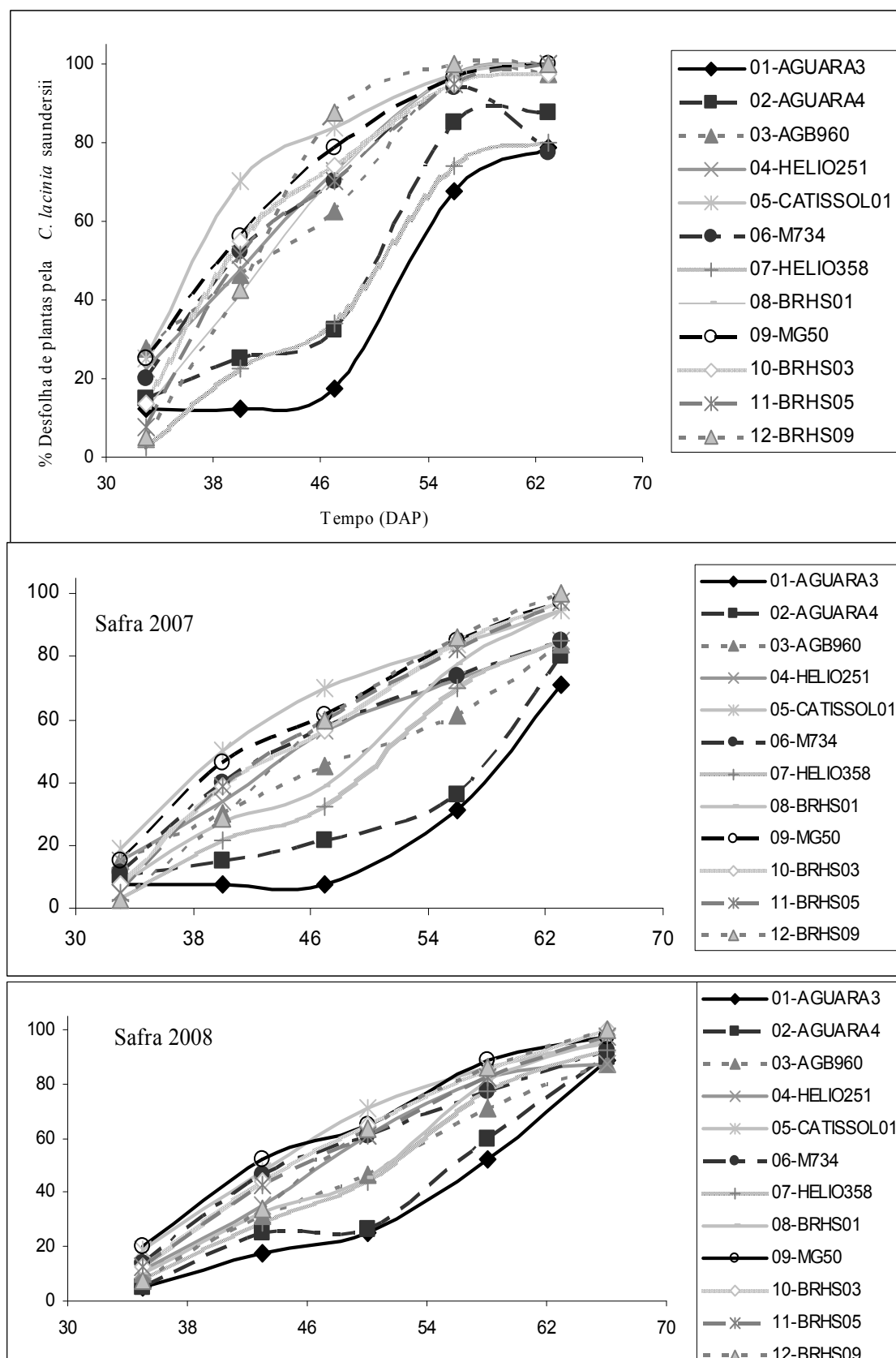
Observando-se os dados da tabela 5.3 para médias repetidas no tempo para efeitos de tratamento (genótipo e tempo), e a interação (tempo x genótipo), constata-se que no primeiro ano só houve significância para genótipo e tempo isoladamente, notando que o ataque da lagarta

acompanha uma curva de progressão em relação ao tempo (Fig 5.2), sendo mais proeminente no primeiro ano de avaliação. Confirmando que nos dois últimos anos, a interação tempo e genótipo também foi significativa .

**Tabela 5.3.** Análise de medidas repetidas no tempo para efeitos de tempo e interação tempo genótipo considerando a infestação de girassol por *Chlosyne lacinia saundersii*.

Variação	Safr 2006				Safr 2007				Safr 2008			
	GL	QM	Valor F	Pr > F	GL	QM	Valor F	Pr > F	GL	QM	Valor F	Pr > F
genótipo	11	0,45	3,79	0,0012	11	0,38	2,83	0,009	11	404,9	3,55	0,0019
bloco(genótipo)	36	0,12	2,51	<,0001	36	0,13	6,91	<,0001	36	114,2	4,82	<,0001
tempo	4	9	184,6	<,0001	4	7,4	385	<,0001	4	14408	860	<,0001
tempo*genótipo	44	0,054	1,14	0,2781	44	0,05	2,75	<,0001	44	41,4	1,75	0,0075





**Figura 5.2.** Porcentagem de desfolha causados pela *C. lacinia saundersii* em dois metros lineares em plantas de girassol nas safras de 2006 a 2008.

#### 5.4. Literatura Citada

**Boiça Júnior, A.L., A.C. Bolonhezi & J. Paccini Neto. 1984.** Levantamento de insetos-pragas e seus inimigos naturais em girassol (*Helianthus annuus* L.), cultivada em primeira e segunda época, no município de Selvíria-MS. An. Soc Entomol Bras. 13:189-196.

**Boiça Júnior, A.L. & J.D. Vendramin. 1993.** Infestação de girassol pela lagarta *Chlosyne lacinia saundersii* em duas épocas de cultivo. Scientia Agrícola. 50: 244-253.

**Campos-Farinha A.E.C, N.P.O. Pinto & J.S. Govone. 1997.** Estudo do comportamento e desenvolvimento de lagartas de *Chlosyne lacinia saundersii*, Doubleday & Hewitson (1849) (Lepidoptera: Nymphalidae), no ataque a uma planta de girassol (*Helianthus annuus* L.). Arq. Inst. Biol. 64:143-147

**Kogan, M. 1989.** Plant resistance in soybean insect control. In: Conferência mundial de investigacion em soja. Buenos Aires. Actas Buenos Aires 3:1519-1525.

**Lazzaroto, J.J., A.R. Roessing & H.C. Mello. 2005.** O agronegócio do girassol no mundo e no Brasil, p.15-42. In: Villas Boas de Campos Leite R M, A.M. Brighenti, C. de Castro, Girassol no Brasil. Londrina Embrapa Soja. 641p.

- Lourenção, A.L. & M.R. Ungaro. 1983.** Preferência para alimentação de lagartas de *Chlosyne lacinia saundersii* Doubleday e Hewitson, 1849 em cultivares de girassol. *Bragantia*. 42:281-286.
- Maranhão, Z.C. 1945.** *Chlosyne lacinia saundersii*, praga do girassol. *Rev. Agricultura*, Piracicaba. 20:5-6.
- Moscardi, F. & G.L. Villas Boas. 1982.** Influência da desfolha artificial, em quatro diferentes estádios fenológicos da planta, sobre o rendimento e outras características do girassol. Resultados de pesquisa do girassol. In: *Reunião Nacional de Pesquisa do Girassol*. 25-27.
- Nakano, O., S. Silveira Neto & R.A. Zucchi. 1981.** *Entomologia econômica*. Piracicaba, Livroceres, 314p.
- Rogers, C.E. 1979.** Biology and breeding for insect and disease resistance in oilseed crops. In: Harris, M.K., ed., *Biology and breeding for resistance to arthropods and pathogens in agricultural plants*. Texas University, 359-389.
- Siddiqui, M.Q., J.F. Brown & S.F. Allen. 1975.** Growth stages of sunflower and intensity indices for white blister and rust. *Plant Disease Reporter*. 59:7-11.
- Silva, A.G.A., C.R. Gonçalves, D.M. Galvão, A.J.L. Gonçalves, J. Gomes, M.N. Silva & L. Simoni. 1968.** Quarto catálogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil; seus parasitos e

predadores. Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura/Laboratório Central de Patologia Vegetal, v.1, 622p.

**Vendramim, J.D. & A.L. Boica Jr 1994.** Efeito de cultivares de girassol sobre o desenvolvimento e a preferência para a alimentação de *Chlosyne lacinia saundersii* Doubl. & Hew. (Lepidoptera: Nymphalidae). An. Soc. Entomol. Brasil 23:81-86.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O girassol é uma das opções para produção de biocombustível, por apresentar elevado teor de óleo nos grãos (38% a 53%) e ampla adaptação às diversas regiões brasileiras, além disso, seu cultivo deve ganhar força com o lançamento do zoneamento de risco climático para a cultura. Atualmente, o girassol ocupa cerca de 100 mil hectares no País. No Cerrado, o girassol é uma opção preferencial como segundo cultivo no verão (safrinha). A possibilidade de uma cultura alternativa para a safrinha, com custo de produção de 20 a 25% mais barato do que o milho e as várias utilidades do girassol, explicam o interesse dos agricultores brasileiros. A produção de óleo para diversas finalidades, farelo para consumo humano e animal, farmacêutico, cosméticos entre outros, todos com boa aceitação no mercado, são os principais destinos para o girassol, aliados a perspectiva de crescimento da área cultivada, bem como a possibilidade de exportação de grãos e óleos.

Com o aumento a área cultivada com girassol, aumentam também, os problemas fitossanitários e dentre eles a maior incidência de pragas na cultura. A lagarta do girassol, *Chlosyne lacinia saundersii*, é considerada a praga mais importante da cultura, e em caso de alta infestação pode inviabilizar sua produção. Como a literatura é escassa em relação a esse inseto, o presente estudo abordou pesquisas chaves para o conhecimento dessa lagarta, que venham a possibilitar um manejo tático na cultura do girassol.

O estudo da variação genética intra e inter populacional desse inseto em oito regiões, variando do Sul ao Norte do País, indicou que a maior variação genética ocorreu dentro das populações, dentre estas as da região Sul e Centro-Oeste (Londrina, Santa Maria e Dourados), foram geneticamente próximas quando comparadas as demais populações. A população de maior heterogeneidade foi encontrada nos indivíduos provenientes de Vilhena, onde amostras desse grupo

foram encontradas dentro de populações de outras localidades. Outras observações foram relevantes, como o baixo fluxo gênico dessa espécie quando comparada a outras, além do fator do polimorfismo da cor não ter influenciado nos agrupamentos. No entanto, estudos adicionais com marcadores moleculares mais específicos podem contribuir para melhor compreender a variabilidade genética dessa espécie.

Além da ampla distribuição geográfica dessa lagarta, ela também é encontrada em várias plantas hospedeiras e algumas delas, como a losna-branca e o carrapicho-de-carneiro, se mostraram muito importantes, não apenas para alimentação do adulto mas também para oviposição. O estudo da biologia e fisiologia de lagartas em função de algumas plantas hospedeiras, incluindo o girassol, indicou que a planta de girassol foi o melhor alimento para esse inseto, mesmo quando o maior consumo de folhas foi observado em losna-branca, mas que não se refletiu no peso final da pupa. O curto tempo de alimentação, pesos de lagartas e/ou pupas elevados e baixos índices de mortalidade, foram os parâmetros que indicaram adequada taxa de crescimento para insetos, o que foi observado para as lagartas alimentadas com folhas de girassol.

Os resultados do teste de campo com doze genótipos, em três anos subseqüentes e em duas épocas de cultivo, mostrou, que a infestação foi significativa somente para a segunda época (dezembro), e a infestação da lagarta oscilou, sendo maior para o primeiro ano (2006) e menor para os dois últimos (2007 e 2008). A infestação variou entre os genótipos, mas os picos do inseto, na maioria, se deu aos 64 dias após o plantio, sendo registrado a maior média entre a cultivar Catissol 01 e o híbrido MG 50, e a menor foi encontrada em Aguará 3 e Aguará 4.

Por fim, o conjunto de resultados aqui apresentado sugere que este inseto é encontrado em diversas regiões do país, bem como em diferentes plantas hospedeiras e que estas afetam a biologia e fisiologia da *C. lacinia saundersii*. A presença de características de resistência por parte de alguns genótipos podem ser importantes para a futura integração de táticas de controle contra o inseto.